

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Série U. N° 55

Année scolaire 1940-41

SUR UNE
NOUVELLE MÉTHODE DE RECHERCHE
QUALITATIVE ET QUANTITATIVE
DES
ÉLÉMENTS PARASITAIRES
DANS LES MATIÈRES FÉCALES

THÈSE

pour l'obtention du diplôme de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(PHARMACIE)

présentée et soutenue le *Juin 1941*
par

Jacques THÉBAULT

Pharmacien

Lauréat de la Faculté de Pharmacie de Paris

Moniteur de Travaux Pratiques
à la Faculté de Pharmacie de Paris

JURY

} MM. LAUNOY, Président.
BACH, Professeur.
VALETTE, Maître de Conférences.

PARIS

IMPRIMERIE R. FOULON

29, Rue Deparcieux, 29

1 9 4 1

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Série U, N° 55

Année scolaire 1940-41

SUR UNE

NOUVELLE MÉTHODE DE RECHERCHE

QUALITATIVE ET QUANTITATIVE

DES

ÉLÉMENTS PARASITAIRES

DANS LES MATIÈRES FÉCALES

THÈSE

pour l'obtention du diplôme de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(PHARMACIE)

présentée et soutenue le

Juin 1941

par

Jacques THÉBAULT

Pharmacien

Lauréat de la Faculté de Pharmacie de Paris

Moniteur de Travaux Pratiques

à la Faculté de Pharmacie de Paris

JURY

{ MM. LAUNOY, Président.
BACH, Professeur.
VALETTE, Maître de Conférences.

PARIS

IMPRIMERIE R. FOULON

29, Rue Deparcleux, 29

1 9 4 1

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

ADMINISTRATION

MM. DAMIENS, *Doyen*, O. ✱, ☉ I.
H. HERISSEY, *Assesseur*, ✱ ☉ I.
H. J. LIONNET, *Secrétaire*, ☉ I.

PROFESSEURS

GORIS, O. ✱, ☉ I	Pharmacie galénique.
DAMIENS, O. ✱, ☉ I	Chimie minérale.
HERISSEY, O. ✱, ☉ I	Chimie biologique.
SOMMELET, ✱, ☉ I	Chimie organique.
LUTZ, ✱, ☉ I	Cryptogamie et Microbiologie.
FABRE, ✱, ☉ I	Toxicologie.
LAUNOY, O. ✱, ☉ I	Zoologie.
DELABY, ✱, ☉ I	Pharmacie chimique.
PICON, ✱, ☉ I	Physique.
MASCRÉ, ✱, ☉ I	Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale.
BACH, ✱, ☉ I	Botanique générale.
N...	Chimie analytique.

Doyens honoraires : M. RADAIS, O. ✱, ☉ I. — GUÉRIN, O. ✱, ☉ I.

Professeurs honoraires :

MM. BÉHAL, G. O. ✱, ☉ I., DELEPINE, O. ✱, ☉ I., LEBEAU, O. ✱, ☉ I.,
Membres de l'Institut,
PERROT, C. ✱, ☉ I., COUTIÈRE, O. ✱, ☉ I., BOUGAULT, O. ✱, ☉ I.
et TASSILLY, O. ✱, ☉ I.

MAITRES DE CONFERENCES

FLEURY, ☉ I	Hydrologie et Hygiène.
BEDEL, ✱, ☉ I	Minéralogie et Législation et Déontologie pharmaceutiques.
RÉGNIER, ☉ I	Bactériologie.
CHARONNAT, ☉ I	Chimie et Pharmacie Chimique.
JANOT, ☉ A.	Pharmacie galénique et Biologie végétale.
VALETTE, ☉ A	Histoire naturelle.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DOMANGE, ☉ A.	Travaux pratiques de 1 ^{re} année	Chimie générale et pharmaceutique.
GAUTIER, ☉ A.	Travaux pratique de 2 ^e et 3 ^e année.	Chimie analytique.
PARIS		Micrographie.
CORRIEZ, ☉ A		Physique.
DAVID, ☉ I		Microbiologie.
GUILLOT		Chimie biologique.
		Bromatologie e t
		Pharmacie chimique

Bibliothécaire en Chef : M. GARNIER, ☉ A.

A MES PARENTS

A MA FEMME

A MES AMIS

A MES MAITRES
DE LA FACULTE DE PHARMACIE
DE PARIS

A MES CHEFS ET A MES CAMARADES
DE L'AMBULANCE CHIRURGICALE
LOURDE 428

A NOTRE MAITRE
ET PRESIDENT DE THESE
MONSIEUR LE PROFESSEUR L. LAUNOY

Officier de la Légion d'Honneur
Professeur de Zoologie à la Faculté de Pharmacie de Paris

*Qui a bien voulu nous ouvrir les
portes de son laboratoire et nous a fait
le grand honneur d'accepter la prési-
dence de cette thèse, nous exprimons
toute notre admiration et toute notre
gratitude.*



A MONSIEUR LE PROFESSEUR E. BRUMPT

Officier de la Légion d'Honneur

Membre de l'Académie de Médecine

Professeur de Parasitologie à la Faculté de Médecine de Paris

*Qui a bien voulu nous honorer de
ses conseils et mettre à notre disposi-
tion la très riche bibliothèque de son
laboratoire.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR D. BACH

Chevalier de la Légion d'Honneur

Professeur de Botanique à la Faculté de Pharmacie de Paris

Pharmacien-Chef des Hôpitaux

*Qui nous a fait le très grand hon-
neur de faire partie de notre jury.*

A MONSIEUR G. VALETTE

Maître de Conférences à la Faculté de Pharmacie de Paris

Pharmacien-Chef des Hôpitaux

*En témoignage de notre bien vive
gratitude.*

A MONSIEUR M. RONDEAU DU NOYER

Assistant à la Faculté de Pharmacie de Paris

Chargé des Travaux Pratiques
d'Histologie et de Parasitologie

A qui nous sommes heureux d'apporter ici l'hommage de notre respectueuse reconnaissance pour la grande bienveillance et l'affectueuse sollicitude qu'il nous a toujours témoignées.

A MONSIEUR H. LEROUX

Chevalier de la Légion d'Honneur
Ancien Chef des Travaux Pratiques
à la Faculté de Pharmacie de Paris
Pharmacien-Chef des Hôpitaux

Qui nous a accueilli dans son laboratoire avec la plus grande bienveillance, en témoignage de notre respectueux attachement.

A MONSIEUR M. LANGERON

Chevalier de la Légion d'Honneur
Maître de Recherches (Centre National de Recherches Scientifiques)
Chef du Service de Mycologie à l'Institut de Parasitologie
de la Faculté de Médecine de Paris

Qui a bien voulu nous apporter l'aide de son impeccable érudition.

A MONSIEUR LE DOCTEUR P. CHENE

Médecin assistant de gastro-entérologie à l'Hôpital Saint-Louis

*Avec notre profonde reconnaissance
pour les précieux conseils qu'il a bien
voulu nous donner.*

A MONSIEUR P. CORRIEZ

Chef des Travaux Pratiques à la Faculté de Pharmacie de Paris

*A qui nous devons notre initiation
aux mesures physiques, avec l'expres-
sion de notre bien vive reconnaissance.*

INTRODUCTION

RAISONS DE LA RECHERCHE D'UNE TECHNIQUE PROPRE A ENRICHIR LES MATIÈRES FÉCALES EN ÉLÉMENTS PARASITAIRES

L'existence d'animaux plus ou moins vermiformes sortant vivants du corps humain et spécialement de l'intestin, animaux responsables de maladies à symptomatologie mal définie, semble avoir été observée depuis la plus haute antiquité. En effet, si l'on en croit R. BLANCHARD, l'étiologie de l'Ankylostomose aurait été entrevue par les Egyptiens dans le papyrus Ebers.

Dans le célèbre pamphlet d'Aristophane, « Les Chevaliers » (1), le diagnostic de la ladrerie est nettement expri-

Καί νή Δῖ ἐμβαλόντες αὐ —
Τῷ πάτταλον μαγειρικῶς
ἐς τὸ στόμ', εἴτα δ'ἐνδοθευ
Τήν γλῶτταν ἐξείραντες αὐ —
Τοῦ σκεψόμεσθ' εὖ κἀνδρικῶς
κεχηνότος
Τόν πρωκτόν, εἰ χαλαῖζα

Par Jupiter, introduisons-lui, comme font les cuisiniers, un levier dans la bouche, puis, attirant sa langue au dehors, nous regarderons bien en conscience, par ses mâchoires béantes, jusqu'à son derrière s'il est ladre.

ARISTOPHANE « Les Chevaliers » (vers 375 à 381).

mé et il est certain qu'à cette même époque HIPPOCRATE connaissait l'Ascaride, le Ténia et l'Oxyure vermiculaire. Les médecins grecs, latins ou leurs successeurs du Moyen Age ne firent ensuite que bien peu de progrès en matière de parasitologie et se bornèrent surtout à consigner dans leurs ouvrages des recettes compliquées et baroques élevées à la dignité d'anthelminthiques, comme d'ailleurs, tant de nos formules actuelles.

Ainsi, jusqu'à la découverte du microscope, la connaissance des vers parasites ne se précise que lentement, par à-coups pourrait-on dire et s'il fallait en donner un exemple ce serait l'historique du Trichocéphale et de l'Ankylostome qu'il faudrait faire : découverts par le médecin-philosophe arabe AVICENNE vers l'an 1000, ils tombent dans un oubli total jusqu'à ce que MALPIGHI à la fin du XVII^e siècle les en exhume après quelques 700 ans.

Mais le microscope devait révolutionner cette helminthologie naissante, briser les limites de la recherche des vers intestinaux adultes et permettre une nouvelle phase de l'analyse parasitologique des matières fécales sur des bases nouvelles ignorées encore au début du siècle dernier; et pourtant, selon le Professeur C. DOBELL (1), ce fut en 1681 qu'Anthony van LEEUWENHOECK, naturaliste et opticien hollandais, découvrit au moyen de microscopes qu'il avait réussi à construire lui-même, *Giardia intestinalis* en signalant la présence de ce Flagellé de 20 μ environ dans ses propres selles.

Ce n'est qu'avec les perfectionnements du microscope que le domaine de la parasitologie s'étendit largement jusqu'à la naissance d'une véritable coprologie qui avait dû, jusqu'alors, « besognant avec de méchants outils », comme dit un vieux chroniqueur, se contenter d'une détermination grossière des parasites adultes. Si l'on consulte les divers ouvrages de la fin du siècle dernier traitant des applications du microscope comme le « Guide de l'Elève et du

Praticien pour les Travaux Pratiques de Micrographie » de BEAUREGARD et GALIPPÉ (2) ou le « Traité du Microscope » de ROBIN (3), alors utilisés à l'ancienne Ecole de Pharmacie de la rue de l'Arbalète, nous voyons avec quelle précision extrême se trouvent définis et figurés les différentes parties des Helminthes, leurs œufs et les « cucurbitins » ou anneaux de Cestodes. Ainsi, l'étude parasitologique des matières fécales dépassant la détermination des vers adultes se complétait par le diagnostic microscopique des œufs, puis, au début de notre siècle, par l'étude des Protozoaires.

Dans ces mêmes années, alors que le monde scientifique venait de se détourner de l'Helminthologie pour suivre PASTEUR à la découverte du monde microbien, un renouveau de la coprologie semble s'être dessiné en même temps qu'apparaissaient, de l'autre côté de l'Atlantique, les premières méthodes d'enrichissement des selles en éléments parasites et nous verrons que leurs publications se sont succédées depuis 1903 sans interruption.

Ainsi, une autre révolution venait de s'accomplir, plus discrète et plus simple, mais qui allait permettre la détermination d'index parasites de contrées toutes entières en facilitant l'examen coprologique d'une manière insoupçonnée jusqu'alors.

Il convient de rappeler que l'impulsion donnée à ces méthodes est venue des travaux effectués par la « Société ROCKFELLER pour les recherches médicales » dont la première tâche fut la lutte contre l'Ankylostome.

En effet, la recherche des éléments parasites dans les selles s'effectuait jusqu'en 1903 par *examens directs*, répétés, d'un grand nombre de prélèvements. Les résultats obtenus s'avéraient suffisants lorsqu'on avait affaire à un grand nombre de parasites, mais pratiquement nuls lorsque ceux-ci étaient en petit nombre, comme c'est le cas général. Le

procédé était simple, mais particulièrement long et d'une inutile fatigue. C'est pour remédier à ces inconvénients que des parasitologues de tous pays ont cherché la possibilité d'une concentration des éléments parasitaires présents dans une partie de la selle à examiner, après élimination du reste de la pâte fécale jusqu'à obtention de la totalité des éléments figurés sous le plus faible volume possible.

Avant de présenter notre méthode personnelle d'enrichissement, nous avons tenu à rassembler les différentes méthodes proposées jusqu'ici et qui n'ont généralement pas été publiées en langue française.

Nous les avons classées selon le procédé employé dans la technique, ce qui peut se résumer ainsi :

I. — MÉTHODES PHYSIQUES

- A. — Concentration par lévigation.
- B. — Concentration par sédimentation obtenue par centrifugation.
- C. — Concentration par emploi de liquides denses.

II. — MÉTHODES CHIMIQUES

- A. — Emploi de l'éther et de l'acide chlorhydrique comme solvants (méthode de W. TELEMANN).
- B. — Modifications apportées à la méthode de W. TELEMANN.
- C. — Emploi de divers réactifs comme solvants.

Dans chacun de ces chapitres, nous avons classé les méthodes par ordre chronologique et fait suivre quelques observations et discussions, soit sur les résultats obtenus, soit sur quelques détails de leurs techniques comparées.

Enfin, pour être complet, nous avons présenté parallèlement à ces méthodes établies en vue d'un diagnostic, quelques techniques polyvalentes ou spécifiques destinées à la numération des œufs d'Helminthes.

Afin de faciliter la recherche éventuelle d'une de ces méthodes, nous les avons rassemblées en un tableau synoptique en les classant, d'une part par ordre chronologique, d'autre part selon les moyens utilisés et les buts recherchés.

TABLEAU SYNOPTIQUE DES MÉTHODES D'ENRICHISSEMENT ÉTABLIES EN VUE DE LA RECHERCHE OU DE LA NUMÉRATION DES ÉLÉMENTS PARASITAIRES

	Méthodes de Recherche				Méthodes de numération
	par lévigation	par sédimenta- tion au moyen de la centrifugation	par emploi de liquides denses	par emploi de solvants chimiques	
1903	Ch.-W. STILES.				
1904	A.-E. BOYCOTT et J.-S. HALDA- NE.				
1905					
1906			C.-C BASS.		
1907					
1908	W. PEPPER.			W. TELEMANN.	
1909					
1910			P.-E. GARRISON. C. WELLMANN.		
1911			M.-C. HALL.		E. BRUMPT.
1912				S. YAOITA.	
1913				Mac NEIL. Y. MIYAGAWA. K. SCHROEDER et C. JORGENSEN.	
1914		M.-J. WHITE.	K. UJIHARA.		
1915		FAUNTLEROY et HAYDEN.	S. COCHRAN.		
1916		W.-C. BILLINGS et J.-P. HI- CKEN.	K. TANAMI.		

	Méthode de Recherche			Méthodes de numération
	par lévigation	par sédimenta- tion au moyen de la centrifugation	par emploi de liquides denses	par emploi de solvants chimiques
1917			M.-A. BARBER.	J.-W. CROPPER et R.-W. ROW. J. CARLES et Ed. BARTHÉLE- MY. W.-C. BOECK.
1918		C. LANE (<i>Lévita- tion</i>).	C.-A. KOFOID et M.-A. BARBER.	L. BARD.
1920			W.-H. GATES, S.-T. DARLING- M.-A. BARBER et H.-P. HACKER. F. FULLEBORN.	
1921			W. NOLLER et L. OTTEN. H.-H. WILLIS.	Y. RODENHUIS.
1922	G.-R. MORIN.		T. VAJDA.	R. KAMADA.
1923		C. LANE (<i>D. C. P.</i>).	C. LANE. C. LANE. C. LANE (<i>D. C. F.</i>). A.-L. SHEA- THER. K.-S. MHASKAR.	E. BRUMPT.
1924			M. KHALIL. R. SIGALAS et R. PIROT.	N.-R. STOLL.
1925			L. CAUCHEMEZ.	M. LANGERON. A. ROBIN.
				A.-C. CHAN- DLER.

	Méthode de Recherche				Méthodes de numération
	par lévigation	par sédimenta- tion au moyen de la centrifugation	par emploi de liquides denses	par emploi de solvants chimiques	
1926			W. YORKE et A.-R.- D. ADAMS. W.-C. HAUS- HEER. C.-A. HERRICK et A.-S. PEAR- SE.		W.-W. CORT- J.-B. GRANT et N.-R. STOLL. N.-R. STOLL et W.-C. HAUS- HEER. F.-C. CALDWELL et E.-L. CALD- WELL. S.-L. HUNG.
1927					F. FULLEBORN.
1928				Ch. GARIN, G. DOUBROW et H. MOUNIER.	
1929			H. BIDEGARAY.		
1930					
1931					J. ZSCHUCKE.
1932				D. de RIVAS. M. RONDEAU du NOYER et R.- M. MIDY.	
1933					
1934					W.-A. HOFF- MANN-J.-A. PONS et A.-L. JANER.
1935					
1936			J. BASUNUEVO et V. ANIDO.	A.-E.-E. LINS.	
1937			C.-F. CRAIG et E.-C. FAUST.		A.-V. MARTINS.
1938			E.-V. KALAN- TARJAN.		

CHAPITRE I

MÉTHODES DE RECHERCHE DES ÉLÉMENTS PARASITAIRES

1° - MÉTHODES PHYSIQUES - Page 21

2° - MÉTHODES CHIMIQUES - Page 73

1° MÉTHODES PHYSIQUES

A. — CONCENTRATION PAR LEVIGATION.

Ces méthodes tendent à enrichir les matières fécales en éléments parasites en produisant une concentration partielle par dissolution de tout ce qui peut être soluble dans l'eau, et par lévigation proprement dite de ce qui reste en suspension dans ce liquide.

On n'obtient ainsi qu'une simili-homogénéisation, car cette concentration ne peut être que partielle.

Dans l'étude des procédés basés sur le principe de lévigation, il est utile de signaler que les auteurs qui l'emploient font la recherche exclusive de l'Ankylostome — STILES, BOYCOTT-HALDANE, PEPPER — ou de *Schistosoma mansoni* — ROBIN — et que ce ne sont là que des techniques établies pour des cas particuliers et, par conséquent, inapplicables à la caractérisation des autres éléments parasites.

1° Procédé de Charles-W. STILES.

Il a été publié en 1903 (4), pour la recherche de l'Ankylostome et sa technique est la suivante:

— désintégrer une ou deux onces de fèces — soit 31 ou 62 grammes — dans une ou deux pintes d'eau — soit 570 ou 1.140 cm³;

- laisser reposer, décanner;
- répéter ce lavage plusieurs fois et laisser finalement sédimenter dans un tube étroit;
- examiner quelques gouttes du sédiment au microscope.

2° Procédé de A.-E. BOYCOTT et J.-S. HALDANE.

Il a été publié en 1904 (5), pour rechercher également l'Ankylostome.

Technique :

- agiter quelques centigrammes de fèces dans un verre de montre avec quelques gouttes d'eau;
- laisser reposer et examiner au microscope le sédiment prélevé à l'aide d'une pipette.

3° Procédé de W. PEPPER.

Dans ce procédé publié en 1908 (6), W. PEPPER combine à la méthode de lévigation simple, une technique lui permettant de collecter les œufs d'Ankylostome en utilisant leur pouvoir d'adhésion à la lame de verre avec laquelle ils sont mis en contact.

Cette propriété particulière due à la viscosité de la membrane externe de l'œuf d'Ankylostome a été ensuite utilisée par différents auteurs et elle est encore employée actuellement pour concentrer les œufs de Nématodes et même ceux d'autres ordres de parasites.

Technique :

- laver les matières dans de l'eau;
- laisser sédimenter 15 minutes;
- déposer le sédiment sur une lame d'une façon aussi uniforme que possible et immerger la lame dans de l'eau distillée;

— avec précaution lui imprimer des mouvements d'oscillations très doux, de telle façon que l'eau vienne balayer les grosses particules des débris alimentaires;

— les œufs d'*Ankylostome* restent seuls sur la lame qui est finalement examinée au microscope.

4° Procédé de G.-R. MORIN.

Ayant constaté que les différentes méthodes d'enrichissement par l'emploi de solvants chimiques altéraient la membrane de l'œuf éperonné de *Schistosoma mansoni*, l'auteur propose ce procédé paru en 1922 (7) et basé sur une lévigation simple précédée d'une double filtration.

Technique :

— diluer les matières fécales dans lesquelles on recherche *Schistosoma mansoni*, avec une solution physiologique formolée à 10 %;

— filtrer successivement cette suspension sur une toile métallique à mailles de 1 mm. puis sur une soie à bluter;

— laisser sédimenter pendant 15 minutes;

— prélever cinq gouttes du sédiment à la pipette et les examiner au microscope.

B. — CONCENTRATION PAR SEDIMENTATION OBTENUE PAR CENTRIFUGATION

Le principe directeur de ces méthodes est une sédimentation, avec l'aide de la force centrifuge, des éléments parasitaires placés au sein d'un liquide dont la densité leur est inférieure.

1° Procédé de Mark J. WHITE.

Dans ce procédé paru en 1914 (8), l'auteur utilise la centrifugation après coloration de quelques éléments non figurés de la pâte fécale par un dérivé métachromatique de la thiodiphénylamine: le bleu de toluidine. Ce procédé n'est applicable qu'à la recherche des œufs d'Ankylostome.

Technique :

- émulsionner 1 cm³ de selles dans de l'eau distillée;
- filtrer le liquide sur deux couches de gaze;
- ajouter 5 gouttes d'une solution à 1 % de bleu de toluidine dans le phénol au 1/5;
- centrifuger 2 minutes à petite vitesse et examiner au microscope 2 à 3 gouttes du culot.

2° Procédé de FAUNTLEROY et HAYDEN.

Ce procédé a été publié en 1915 (9), (10) pour la recherche de l'Ankylostome.

Les auteurs combinent à la centrifugation fractionnée un procédé de coloration de la pâte fécale afin de la diffé-

rencier des éléments parasites qui ne se teignent pas. Ils utilisent, comme colorant, le violet aniliné qui est une solution de violet de gentiane, mélange de chlorhydrates de pentaméthylpararosanilines et de violet hexaméthylé. D'autre part, FAUNTLEROY et HAYDEN recommandent d'émulsionner préalablement les matières en présence de Lysol — solution savonneuse de crésols — afin d'en atténuer l'odeur.

Technique :

— mélanger 2 grammes de selles avec 5 cm³ de Lysol à 2 % dans un tube à centrifuger;

— centrifuger 1 minute à grande vitesse. Décantier le liquide surnageant le culot et ajouter à nouveau du Lysol; mélanger et centrifuger. Répéter cette opération trois fois;

— prendre une goutte du culot et la déposer sur une lame; ajouter une goutte de violet aniliné, mélanger et examiner au microscope.

Le violet aniliné employé est obtenu, selon la formule de MALORY et WRIGHT, en dissolvant le violet de gentiane dans l'alcool et en ajoutant successivement l'aniline et l'eau :

violet de gentiane.	5 gr.
aniline.	2 cm ³
alcool à 95°	10 cm ³
eau.	88 cm ³

Si les matières sont pauvres en œufs, FAUNTLEROY et HAYDEN recommandent de centrifuger d'abord 4 tubes renfermant chacun 2 grammes de matières, puis de réunir les culots obtenus dans un seul tube qu'on centrifuge à nouveau trois fois. C'est ce dernier culot qui est examiné.

3° Procédé de W.-C. BILLINGS et J.-P. HICKEN.

Ces auteurs ont proposé en 1916 (11), pour le diagnostic de l'Ankylostomose, ce procédé d'enrichissement par

centrifugations successives d'une suspension de matières fécales après passage à travers une gaze. Comme liquide de dilution des fèces, les auteurs préconisent l'eau distillée mais ils recommandent que celle-ci soit à une température d'environ $+10^{\circ}\text{C}$.

Technique :

— prélever le volume d'une noix environ de matières et le placer dans une capsule de porcelaine contenant 60 cm^3 d'eau froide;

— broyer soigneusement les matières afin d'obtenir une émulsion aussi parfaite que possible. Dans le cas de selles liquides, mettre parties égales de fèces et d'eau et émulsionner avec soin;

— filtrer l'émulsion obtenue sur deux ou trois couches de gaze et répartir dans des tubes à centrifuger;

— centrifuger 10 secondes à 2.000 tours-minute;

— décanter le liquide surnageant le culot de centrifugation et remettre en suspension le sédiment ainsi obtenu, dans un peu d'eau froide;

— centrifuger 10 secondes à 2.000 tours-minute;

— rejeter le liquide surnageant et remettre en suspension comme précédemment;

— centrifuger à nouveau 10 secondes à 2.000 tours-minute;

— le culot obtenu est alors prélevé au moyen d'une pipette et quelques gouttes sont examinées.

4° Procédé de Clayton LANE dit: « Lévitation ».

L'auteur a publié cette technique de recherche des œufs d'Ankylostome en 1918 (12), (13). L'idée directrice de ce procédé est de combiner la propriété d'adhésion découverte par PEPPER pour ces œufs, à la centrifugation fractionnée. Pour cela, C. LANE a inventé un dispositif spécial décrit ci-après.

Technique :

— préparer, d'une part, une lame de la façon suivante : sur une lame de verre de 3 pouces sur 1, délimiter une surface de 2 pouces carrés, soit en traçant avec de la vaseline ou un crayon gras le périmètre d'un rectangle dont les deux longueurs parallèles et confondues avec les bords de la lame sont réunies entre elles par deux autres lignes situées à un demi-pouce de chaque extrémité de la lame; soit en lutant sur le centre d'une lame, une autre lame mesurant 2 pouces sur 1;

— d'autre part, dans le fond d'une petite cuvette d'environ 5 pouces de longueur sur 4 de largeur et 1 de hauteur, placer parallèlement entre elles et à moins de deux pouces de distance deux petites baleines plates ou 2 tiges d'acier élastique d'environ 5 pouces $1/2$ de long. Pour empêcher ces ressorts de glisser dans la cuvette, courber chaque extrémité de ceux-ci à angle droit;

— placer la lame préparée, comme il a été indiqué précédemment, en travers de ces deux supports ressorts;

— broyer 0 cm³ 50 de matières dans de l'eau distillée;

— la suspension obtenue est filtrée à travers une gaze de 100 mailles au pouce linéaire et le filtrat est versé dans un récipient cylindrique en verre d'environ 5 pouces de haut et 1 pouce de diamètre;

— ajouter au filtrat les eaux de lavage de la gaze et centrifuger le tout;

— décanter le liquide surnageant le culot de centrifugation;

— agiter le culot dans quelques gouttes d'eau et le retirer obliquement. Les quelques gouttes qui peuvent rester dans le tube de centrifugation sont versées sur la surface centrale de la lame spécialement préparée;

— laver le culot de centrifugation et le tube avec 2 ou 3 gouttes d'eau et additionner ces eaux de lavage au contenu de la lame. Ajouter sur celle-ci de l'eau jusqu'à formation d'un ménisque dont le volume total doit être de 2 cm³;

— alors et seulement, étaler le culot sur la surface du ménisque aussi également que possible, ce qui doit être fait sans faire écouler de liquide;

— laisser en repos pendant cinq minutes;

— remplir la cuvette d'eau de telle façon que le niveau affleure la lame;

— disposer d'autre part un système « compresseur » ainsi formé : d'une part, deux petites fourches verticales reliées entre elles par une lame horizontale sont appuyées sur les deux extrémités libres de la lame; d'autre part, une baguette de verre dont les deux extrémités courbées à angle droit sont disposées, l'une sous la lame, l'autre sur le sommet du compresseur, sert à tenir solidaires, l'une par rapport à l'autre, la lame et le support;

— appuyer sur le système compresseur de telle façon que la lame soit immergée avec un angle de 20° , angle mesuré au moyen d'un fil à plomb et d'une échelle fixée sur le compresseur;

— l'angle de 20° étant atteint, relâcher la pression sur le compresseur et les baguettes d'acier fonctionnant comme ressorts remontent le système, de telle façon que la lame émerge sous un angle de 20° ;

— pendant ce mouvement, la tension superficielle a enlevé de la surface de la lame tous les débris fécaloïdes mais a laissé adhérents sur celle-ci les éléments parasitaires.

5° Procédé de Clayton LANE dit: « Direct centrifugal Precipitation ».

Après le procédé décrit précédemment, Clayton LANE a publié en 1923 (14), (15), pour la même recherche, la technique plus simple de centrifugation des matières fécales au contact d'un disque de verre sur lequel se collectent les œufs d'*Ankylostome*.

Technique:

— 1 cm³ de matières est mis en suspension dans 200 cm³ d'eau;

— prélever 10 cm³ de la suspension, ce qui représente 0 cm³ 05 de matières. Centrifuger « *comme il convient* » ces 10 cm³, le culot du tube à centrifuger étant recouvert par un disque de verre dont le diamètre est légèrement inférieur à celui du tube lui-même;

— rejeter le liquide supérieur au culot, celui-ci est retiré avec le disque reposant dessus et ce dernier est retourné et disposé sur deux supports en cire à modeler placés dans une cuvette. Ces supports ont pour but de maintenir le disque à une distance du fond de la cuvette, telle que de l'eau versée dans celle-ci ne fasse que l'effleurer;

— au contact de l'eau, les matières fécales quittent le disque, tandis que les œufs d'*Ankylostome* restent adhérents sur celui-ci;

— examiner ensuite le disque au microscope.

C. — CONCENTRATION PAR EMPLOI DE LIQUIDES DENSES

Tous les procédés basés sur l'emploi de liquides denses cherchent à séparer les éléments parasitaires du reste de la pâte fécale en précipitant celle-ci et en faisant flotter les kystes de Protozoaires et les œufs d'Helminthes dont la densité est inférieure au liquide.

1° Procédé de C.-C. BASS dit: « Indirect gravity Floation ».

Un premier procédé publié en 1906 (16) consistait simplement à additionner les fèces d'une solution de chlorure de sodium saturée aux 9/10^e et à examiner une goutte du liquide prélevée à la surface après sédimentation.

Puis, en 1909 (17), C.-C. BASS publie une nouvelle technique dans laquelle il utilise la centrifugation avec des solutions dont les densités sont successivement de 1,050 et 1,250, afin de précipiter puis de faire flotter les œufs d'Ankylostome.

Il sépare ainsi l'élément parasitaire des débris alimentaires après un premier tri effectué par filtration et lavage.

Technique:

— mélanger un volume de fèces avec 9 volumes d'eau. Passer au tamis;

— centrifuger ce filtrat. Le liquide surnageant, décanté, il est additionné d'un autre volume de fèces et centrifugé;

— répéter cette opération jusqu'à ce que toute la selle à examiner ait été employée;

— le précipité total est à nouveau lavé et centrifugé. Répéter cette opération de lavage jusqu'à ce que le liquide surnageant soit clair. (Chaque centrifugation étant de 10 secondes à 3.500 tours-minute);

— centrifuger le culot final dans une solution à 12 % de chlorure de calcium dont la densité est 1,050 à +18°C. Dans ce liquide, les éléments parasites plus lourds forment un culot, alors que certains résidus alimentaires flottant dans la solution sont séparés par décantation;

— le culot de cette première centrifugation est dilué dans une solution de chlorure de calcium de densité 1,250 et centrifugé à nouveau. Le culot contient alors les résidus alimentaires, tandis que les œufs flottent dans le liquide et peuvent être collectés au moyen d'une pipette;

— cependant, l'auteur conseille de ne pas les recueillir ainsi, mais de décanter le liquide surnageant et de le diluer avec de l'eau de telle façon que la densité passe de 1,250 à 1,050;

— centrifuger le liquide ainsi obtenu: les œufs d'*Ankylostome* plus lourds précipitent et sont ainsi rassemblés et séparés du reste de la pâte fécale;

— finalement, examiner une goutte du culot au microscope.

2° Procédé de P.-E. GARRISON dit: « Indirect gravity Flootation ».

Dans une publication faite en 1910 (18), GARRISON propose de faire monter les œufs d'Helminthes mis en suspension dans une solution de densité 1,120, par simple centrifugation. Le prélèvement s'effectue à la surface du liquide au moyen d'une pipette.

Technique:

— laver et filtrer une petite quantité de matières à travers une gaze jusqu'à ce que le liquide surnageant soit clair;

— mettre le sédiment en suspension dans une solution de chlorure de calcium de densité 1,120, c'est-à-dire contenant 350 gr. de ce sel par litre;

— prélever quelques gouttes à la surface et examiner entre lame et lamelle.

3° Procédé de Creighton WELLMANN dit: « Indirect centrifugal Floatation ».

Ce procédé publié en 1910 (19) est une simple variante de celui de C.-C. BASS; au lieu de solutions de chlorure de calcium, WELLMANN préconise celles d'acétate de sodium, mais le principe et la technique restent les mêmes. Cependant l'auteur indique que les centrifugations successives doivent être poussées jusqu'à ce que, seuls, flottent les œufs d'Helminthes.

Technique:

— centrifuger les matières fécales convenablement diluées avec des solutions d'acétate de sodium dont les densités sont alternativement de 1,050 et 1,250;

— répéter l'opération jusqu'à ce que tous les œufs se trouvent répartis à la surface, les débris fécaloïdes restant en-dessous;

— prélever quelques gouttes à la surface et les examiner entre lame et lamelle.

4° Procédé de M.-C. HALL.

L'auteur a publié ce procédé en 1911 (20). Il fait tout d'abord une filtration des matières fécales préalablement

émulsionnées à travers une série de tamis. Ensuite, le filtrat est centrifugé dans un liquide dense et les éléments parasites sont rassemblés par centrifugation des parties surnageantes qui les contiennent, après dilution à un taux convenable.

Technique:

— diluer les fèces dans un vase à large goulot rempli d'eau aux trois quarts;

— triturer avec un agitateur de verre et, si les matières sont trop dures, s'aider de balles de plomb;

— filtrer sur une série de 6 tamis emboîtés les uns dans les autres dont les mailles s'échelonnent entre 180 μ et 3 millimètres. Pour éviter le colmatage des tamis, s'aider d'un agitateur;

— passer une dernière fois le filtrat obtenu sur une pièce de soie dont les mailles mesurent 100 μ ;

— laisser le filtrat au repos quelques minutes et prélever le sédiment après décantation des couches surnageantes. Additionner ce sédiment d'un liquide de densité 1,250. HALL emploie le chlorure de sodium à saturation.

— centrifuger 1 minute à 1.000 tours-minute;

— prélever 1 cm³ du liquide surnageant où se trouvent rassemblés les éléments parasites puisque leur densité, selon l'auteur, se situe entre 1,050 et 1,100;

— délayer ce prélèvement dans de l'eau distillée et centrifuger cette nouvelle suspension dans les mêmes conditions que précédemment;

— prélever finalement 2 à 3 gouttes du culot et les examiner au microscope.

5° Procédé de K. UJIHARA.

Ce procédé publié en 1914 (21) est une des premières méthodes d'enrichissement par traitement avec des liquides denses, pour l'étude de la dysenterie amibienne.

Pour arriver à un enrichissement des matières fécales en kystes, l'auteur détermine d'abord le poids spécifique de ceux-ci par la technique suivante :

— mettre en suspension des matières contenant des kystes d'*Entamæba dysenteriae*;

— filtrer sur gaze;

— additionner le filtrat de quantités variables de glycérine, de façon à obtenir des mélanges de densités allant de 1,050 à 1,080. Lorsque ces mélanges sont centrifugés, les kystes ne précipitent qu'autant que leur densité est supérieure à celle du mélange; par ce principe de tâtonnement, UJIHARA détermine ainsi à 1,065 le poids spécifique approximatif des kystes.

Connaissant ce poids spécifique, l'enrichissement s'effectue en mettant les kystes en suspension dans un premier liquide dense. L'auteur les rassemble ensuite en diluant et en centrifugeant ce liquide. Il fait alors une série de lavages en employant successivement une solution physiologique, l'antiformine, l'eau chlorhydrique et enfin l'éther.

Technique :

— triturer 4 à 5 grammes de matières avec 60 centimètres cubes d'eau physiologique;

— passer au tamis;

— additionner le filtrat de glycérine — environ 30 cm³ — de façon à obtenir un mélange de densité 1,070;

— centrifuger;

— prélever le liquide supérieur contenant les kystes en suspension et y ajouter de l'eau jusqu'à ce que la densité s'abaisse à 1,060;

— centrifuger cette suspension. Etant donné leur densité et celle du mélange, les kystes peuvent alors précipiter en un culot;

— laver ce culot avec de l'eau physiologique;

— après avoir laissé déposer, traiter avec une solution d'antiformine à 30 %;

— agiter, puis centrifuger. Laver le culot à l'eau distillée et centrifuger dans de l'eau acidulée à l'acide chlorhydrique;

— le culot est finalement traité avec de l'eau physiologique et de l'éther;

— rejeter les parties supérieures au culot qui est examiné.

6° Procédé de Samuel COCHRAN.

En 1915 (22), S. COCHRAN préconise une technique très voisine de celle de M.-C. HALL pour la recherche des œufs d'Helminthes: les matières convenablement diluées sont filtrées et centrifugées; le culot est alors mis en suspension dans une solution de chlorure de calcium, afin d'obtenir un flottage des éléments figurés; puis, les œufs d'Helminthes sont rassemblés par centrifugation des parties surnageantes qui les contiennent, après dilution.

Technique:

— mettre en suspension le volume d'une noix de matières fécales dans 30 à 50 cm³ d'eau;

— filtrer à travers un tamis de 90 mailles au pouce;

— centrifuger la suspension de fèces et rejeter le liquide surnageant;

— ajouter au culot ainsi obtenu une solution de chlorure de calcium à 42 grs 50 % et mettre en suspension par agitations successives;

— centrifuger, comme précédemment, avec 25 à 30 tours d'une centrifugeuse à main;

— prélever, à l'aide d'une pipette, le liquide surnageant et le diluer dans un tube à centrifuger avec de l'eau distillée;

— centrifuger à nouveau de la même manière que précédemment;

— prélever une ou deux gouttes du culot obtenu et les examiner entre lame et lamelle.

7° Procédé de K. TANAMI.

Ce procédé a été publié en 1916 (23) par l'auteur qui utilise une solution saturée de chlorure de sodium pour faire monter les œufs d'Helminthes et les séparer ainsi du reste de la pâte fécale.

Technique:

— remplir, aux neuf-dixièmes environ, un tube à essai avec une solution de chlorure de sodium à saturation;

— placer dans le tube un petit volume de matières et le mélanger soigneusement à la solution par comminution au moyen d'un agitateur;

— compléter le volume du tube à essai avec de la saumure jusqu'à ras-bord et prélever ensuite les œufs d'Helminthes au moyen d'une ôse à la surface du liquide.

8° Procédé de M.-A. BARBER.

L'auteur a publié en 1917, ce procédé dit: « *Indirect gravity floatation* » — *Flottage par action indirecte de la pesanteur* (24).

Ce procédé, qui ne vise que le diagnostic de l'Ankylostome, a été décrit, d'autre part, par M.-E. BARNES (25), (26). Il utilise non plus la force centrifuge, mais l'action de la pesanteur sur l'élément parasitaire placé dans un liquide plus dense que lui.

Technique:

— agiter les fèces avec un mélange formé à parties égales de glycérine et de solution saturée de sulfate de magnésium;

— « *les œufs montent à la surface et y flottent* », aussi BARBER recommande de prélever quelques gouttes à la partie supérieure et de les examiner au microscope.

9° Procédé de C.-A. KOFOID et M.-A. BARBER.

Ces auteurs ont publié en 1918 (27) ce procédé dit : « *Brine floatation loop method* » — *Flottage sur une saumure et prélèvement avec une anse.*

L'idée directrice de ce procédé est la même que celle de BARBER dans la technique précédente : flottage appliqué à tous les œufs d'Helminthes sur un liquide dense sans centrifugation ; mais, à la place du mélange glycérine-sulfate de magnésium, les auteurs utilisent une solution de chlorure de sodium à saturation. Pour séparer les résidus alimentaires et les empêcher de flotter, ils emploient l'artifice très simple de descendre une bourre de paille de fer dans le récipient contenant la suspension.

Technique :

— un récipient de 70 cm³ est rempli au tiers de fèces ; y ajouter une solution saturée de chlorure de sodium. Diviser les matières par agitation, jusqu'à obtention d'une émulsion homogène ;

— laisser tomber dans le récipient un disque de fibres d'acier comprimées d'une épaisseur d'1/8^e à 1/4 de pouce ;

— laisser en contact une heure ;

— l'extrémité d'un fil de 6 pouces de longueur est enroulée autour d'une baguette de verre d'un diamètre d'un pouce et demi. Former une boucle avec le fil que l'on dispose à angle droit par rapport à la baguette, en lui donnant la forme d'une anse. Celle-ci sert à prélever quelques gouttes à la surface qui seront examinées entre lame et lamelle.

Clayton LANE (28) a proposé en 1928 une modification de cette technique, en y ajoutant une centrifugation :

— une suspension contenant un centimètre cube de fèces est centrifugée. Le culot de centrifugation est mis à flotter pendant une heure dans 80 cm³ de solution de chlorure de sodium à saturation ;

— examiner quelques gouttes prélevées à la surface comme dans la technique précédente.

10° Procédé de W.-H. GATES.

Dans ce procédé publié en 1920 (29) pour la séparation des œufs d'Helminthes à partir des matières fécales, l'auteur propose une première centrifugation de celles-ci après dilution dans de l'eau distillée. Le culot de centrifugation obtenu est ensuite mis en suspension et centrifugé dans un liquide de densité 1,250. Les œufs flottent à la surface du ménisque formé et sont recueillis à la pipette. Le liquide ainsi prélevé est dilué, ce qui permet la sédimentation des œufs.

Technique :

- tamiser les matières et les diluer avec de l'eau distillée;
- centrifuger et décanter les parties surnageantes;
- centrifuger à nouveau le culot avec une solution de chlorure de sodium ou de chlorure de calcium de poids spécifique 1,250;
- prélever 2 cm³ sur le bord du ménisque, les diluer et centrifuger une dernière fois;
- verser dans un verre de montre le culot détaché du fond du tube à centrifuger par une série de secousses; rincer le tube avec un peu d'eau qui est ajoutée au contenu du verre de montre;
- imprimer au verre de montre un mouvement circulaire, les œufs sédimentent et sont entraînés par le mouvement du liquide vers le centre où on les prélève.

11° Procédés de S.-T. DARLING, M.-A. BARBER et H.-P. HACKER.

Ces auteurs ont publié en 1920 (30) une simplification des techniques précédentes dans le but de la recherche

unique de l'Ankylostome, en plaçant directement sur une lame le liquide dense à la surface duquel sont réparties les fèces préalablement émulsionnées.

Technique :

— broyer et diviser soigneusement dans de l'eau une petite quantité de fèces;

— préparer une lame de la façon suivante : sur une lame ordinaire de 3 pouces sur 2, délimiter, au moyen d'un crayon gras, une surface rectangulaire à l'intérieur de laquelle on forme un ménisque constitué par un mélange à parties égales de glycérine et d'une solution saturée de chlorure de sodium;

— disposer sur ce ménisque les fèces préalablement divisées et examiner au microscope.

DARLING, BARBER et HACKER ont publié dans le même rapport une seconde technique d'enrichissement des matières dite « *Indirect Centrifugal Flootation* » — *Flottage par action indirecte de la centrifugation* —, pour la même recherche.

Ils appliquent la centrifugation à la technique précédente en modifiant le liquide de flottage et en prélevant les œufs par un procédé spécial.

Technique :

— mélanger les fèces avec de l'eau « *jusqu'à consistance convenable* »;

— centrifuger et décanter pour ne conserver que le culot;

— ajouter à ce culot une solution saturée de chlorure de calcium ou un mélange composé à parties égales de glycérine et de solution saturée de chlorure de calcium. Avec l'une ou l'autre de ces solutions, remplir presque jusqu'à ras-bord le tube à centrifuger;

— centrifuger; les œufs quittent le culot et se trouvent en suspension dans le liquide;

— pour les collecter, les auteurs emploient l'un ou l'autre des deux procédés suivants :

a) — soit immerger dans la solution un tampon de coton sur lequel viennent se fixer les œufs;

b) — soit immerger dans la solution un tampon de coton dont une extrémité est tordue en une petite queue ou laisser flotter l'extrémité effilochée d'une bourre de coton sur le liquide. Additionner, alors, le contenu du tube de 2 à 3 gouttes d'une solution à 2 % d'agar-agar fondu, qui se solidifie en un disque flottant. Au moyen de l'extrémité tordue du coton, retirer le disque et l'examiner sous lamelle après l'avoir retourné sur une lame.

12° Procédé de F. FULLEBORN.

La technique de FULLEBORN publiée en 1920 (31) est une simplification de celle de KOFOID et BARBER exposée précédemment, puisque l'enrichissement s'effectue par une simple sédimentation des débris alimentaires tandis que les œufs s'élèvent dans un liquide dense.

Technique :

— délayer 10 grammes de matières dans 200 cm³ de solution saturée de chlorure de sodium;

— laisser reposer 45 minutes et, avec une anse de platine de 1 cm. de diamètre, enlever la pellicule superficielle;

— examiner les gouttes prélevées au microscope.

L'auteur signale que, quelquefois, au bout de 15 minutes, la surface du liquide peut se trouver constituée par une pellicule de particules alimentaires; dans ce cas, il faut disposer cette couche sur une solution saturée de chlorure de sodium pendant un quart d'heure au moins. Au bout de ce temps, prélever quelques gouttes à la surface à l'aide d'une ôse de platine et les examiner.

13° Procédé de W. NOLLER et L. OTTEN.

Ce procédé publié en 1921 (32) est une modification de la technique de FULLEBORN spécialement étudiée pour la recherche des Coccidies. En effet, ce perfectionnement consiste principalement dans l'emploi de matras coniques, dans lesquels s'effectue la montée des Coccidies, après émulsion et tamisage des matières.

Technique :

— émulsionner par agitation continue les fèces dans une solution à saturation de chlorure de sodium, le rapport de la masse fécale à la solution devant toujours être de 1/5[~];

— la bouillie ainsi obtenue est filtrée sur un tamis métallique à mailles de 1 mm.;

— entraîner les Coccidies qui peuvent être retenues dans les mailles du tamis en versant à nouveau de la saumure sur celui-ci;

— verser le filtrat et les eaux de lavage dans un matras conique et, grâce à l'étroite ouverture du flacon, les oocystes qui flottent dans la saumure, se rassemblent à la surface rendue minime par le fait que le flacon conique est complètement rempli;

— après 25 à 30 minutes, recueillir quelques gouttes à la partie supérieure du liquide au moyen d'une ôse de platine et les examiner.

14° Procédé de H. Hastings WILLIS.

Ce procédé a été publié en 1921 (33) par WILLIS pour la recherche de l'Ankylostome. L'auteur utilise un liquide suffisamment dense pour que les œufs d'Ankylostome puissent venir à sa surface, tandis que les débris alimentaires sédimentent; mais, reprenant les travaux de PEPPER sur l'adhérence de ces œufs, il collecte ceux-ci en fermant le récipient contenant la dilution de matières avec une lame

de verre en contact avec la solution salée et c'est cette lame qui est ensuite examinée.

Technique :

— mettre en suspension 0 cm³ 50 de matières dans une solution saturée de chlorure de sodium ajoutée goutte à goutte, en agitant, dans un récipient cylindrique, en métal, de 3 cm. 30 de diamètre et 1 cm. de profondeur ayant un volume de 9 cm³ environ;

— l'opération doit durer 5 minutes;

— remplir le récipient de saumure à ras-bord et le fermer au moyen d'une lame de 3 pouces sur 2, de telle façon qu'aucune bulle d'air ne vienne s'interposer entre la lame et le liquide;

— laisser en contact une heure;

— au bout de ce temps, examiner en goutte pendante.

15° Procédé de T. VAJDA.

Le procédé de VAJDA publié en 1922 (34) est destiné à la recherche des œufs de Trématodes chez les Bovidés.

L'auteur utilise une solution de silicate de sodium particulièrement dense pour le flottage de ces œufs sous l'action de la centrifugation, après une mise en suspension des matières dans de l'eau formolée.

Technique :

— délayer 0 gr. 50 de selles de bovidés ou 0 gr. 25 de fèces de mouton dans 3 cm³ de formol à 5 % en s'aidant d'un agitateur;

— verser dans un tube à centrifuger et ajouter 3 cm³ d'une solution de silicate de sodium de densité 1,430;

— centrifuger 30 secondes;

— prélever 5 à 6 gouttes à la surface du liquide et examiner entre lame et lamelle.

16° Procédé de A. Leslie SHEATHER.

Dans ce procédé publié en 1923 (35), A.-L. SHEATHER s'est attaché à étendre à la recherche de tous les œufs d'Helminthes la technique de WILLIS en la modifiant sur de nombreux points: tout d'abord, il effectue une filtration préalable, puis il remplace la solution saline par un sirop de sucre de densité convenable; enfin, il collecte les œufs d'Helminthes à la surface de cette solution par une technique nouvelle.

Technique :

- émulsionner les selles dans l'eau distillée jusqu'à consistance fluide;
- filtrer sur gaze métallique donnant 100 mailles au pouce;
- mêler à un volume égal de sirop de sucre obtenu avec parties égales de sucre et d'eau;
- centrifuger 2 minutes à 2.000 tours-minute;
- choisir une lamelle ronde dont le diamètre soit légèrement inférieur à celui du tube à centrifuger, de telle sorte qu'elle puisse entrer exactement dans celui-ci. Au moyen de cire à modeler ou de lanoline, coller la lamelle à l'extrémité d'un agitateur et enfoncer le système ainsi formé jusqu'à ce que la lamelle affleure au niveau du liquide. Retirer la lamelle qui entraîne avec elle une goutte du liquide contenant les œufs venus à la surface;
- disposer cette lamelle sur une lame et examiner.

17° Procédé de Clayton LANE.

En 1923, quelques mois après la publication de son procédé dit « *Direct Centrifugal Precipitation* », LANE (15) propose une série de techniques dont la première est dite « *Floatation in an inverted funnel* » — *Flottage*

dans un entonnoir retourné. Dans celle-ci, il présente un processus de recherche des œufs d'*Ankylostome* très voisin de celui de NOLLER et OTTEN; si l'idée directrice est la même, un détail de technique change: au lieu d'utiliser un matras conique, le flottage des œufs s'effectue dans la partie cylindrique d'un entonnoir renversé au-dessus d'une solution saline. La surface où les œufs sont amenés à flotter est ainsi diminuée et l'enrichissement en est d'autant plus augmenté.

Technique :

— dans un grand vase à précipitation de 4 pouces $1/2$ de haut et 1 pouce $1/2$ de diamètre, disposer à un pouce environ des bords un morceau de bois perforé en son centre de telle façon qu'on puisse lui adapter le bord d'un entonnoir rodé, retourné, incliné à 45° et dont la partie cylindrique mesure un demi-pouce de diamètre;

— mettre en suspension 1 cm^3 de fèces dans une solution « salée » d'environ 500 cm^3 , de telle façon que le liquide soit en quantité suffisante pour que son niveau affleure la partie cylindrique de l'entonnoir;

— faire agir soit la force centrifuge, soit la pesanteur pour amener les œufs d'*Ankylostome* à la surface du liquide et les y prélever au moyen d'une ôse de platine.

18° Procédés de Clayton LANE dits: « Floatations in a cylinder of half-inch bore ». — Flottages dans un cylindre d'un demi-pouce de diamètre.

Du procédé de LANE dit « *Floatation in an inverted funnel* », nous avons séparé à dessein les six techniques suivantes de collection des œufs d'*Ankylostome*, bien qu'elles aient été publiées dans le même rapport (15). En effet, LANE propose ici 6 techniques différentes de collec-

tion des œufs d'Ankylostome mis préalablement en suspension dans un liquide dense, par flottage dans un cylindre d'un demi-pouce de diamètre. Il utilise soit l'action de la pesanteur, soit la force centrifuge et le prélèvement s'effectue en combinant l'un ou l'autre de ces procédés sur un ménisque convexe ou concave ou directement par contact du liquide avec une lamelle.

a) *Flottage par action indirecte de la pesanteur avec formation d'un ménisque concave.*

Le culot de centrifugation provenant d'une suspension contenant 1 cm³ de matières est mélangé dans un tube cylindrique d'un demi-pouce de diamètre avec une solution saline en quantité suffisante pour remplir le tube presque jusqu'à ras-bord. Le ménisque concave étant ainsi formé, laisser en contact une heure; au bout de ce temps, collecter les œufs à la surface du ménisque au moyen d'une anse de platine.

b) *Flottage par action indirecte de la pesanteur avec formation d'un ménisque concave.*

La technique est la même que précédemment, excepté que le tube est centrifugé 1 minute à 1.000 tours-minute.

c) *Flottage par action indirecte de la pesanteur avec formation d'un ménisque convexe.*

Au lieu de remplir le tube comme dans la technique (a), l'auteur le remplit jusqu'à ras-bord, afin de former un ménisque convexe.

Laisser en repos une heure et collecter les œufs à la surface du ménisque.

d) *Flottage par action indirecte de la centrifugation avec formation d'un ménisque convexe.*

Le tube cylindrique d'un demi-pouce de diamètre est

presque rempli comme dans la technique (a) ou (b) puis centrifugé. Il est ensuite rempli jusqu'à ras-bord comme dans la technique (c). Laisser reposer une heure et collecter les œufs à la surface du liquide.

e) *Flottage par action directe de la pesanteur sous lamelle.*

Le tube est rempli avec la suspension jusqu'à ras-bord; une lamelle est appliquée sur le tube et laissée en contact pendant une heure. Au bout de ce temps, retourner la lamelle et l'examiner.

f) *Flottage par action indirecte de la centrifugation sous lamelle.*

Le tube est tout d'abord rempli presque jusqu'à ras-bord avec la suspension, puis centrifugé. Remplir ensuite jusqu'à ras-bord et couvrir d'une lamelle. Laisser en contact une heure et examiner au bout de ce temps la lamelle.

19° Procédé de Clayton LANE dit: « D. C. F. »

Ce procédé connu généralement sous le nom de « *Direct Centrifugal Flootation* » ou « *D. C. F.* » est le dernier de ceux que nous avons passés en revue précédemment et qui, tous, ont été publiés en 1923. Il a été spécialement mis au point ultérieurement en 1928 (28) pour la recherche des œufs d'*Ankylostome*.

Le principe de cette technique est d'effectuer une première sédimentation des éléments parasitaires des fèces par centrifugation dans de l'eau distillée, puis de séparer les éléments non figurés des œufs d'*Ankylostome* contenus dans le culot, par flottage de ceux-ci sur un liquide dense. LANE obtient cette séparation par une seconde centrifugation et les œufs sont concentrés sur une lamelle fermant le tube à centrifuger avec la saumure.

Technique :

— remplir complètement de matières un cylindre de cuivre ouvert aux deux extrémités dont la longueur est de 17 mm. et le diamètre de 8 mm. Pour ce remplissage, le tube tenu par un forceps est amené à incidence rasante sur la selle à examiner;

— disposer dans un tube à centrifuger le cylindre nettoyé extérieurement sous un courant d'eau. Ajouter une quantité d'eau suffisante pour immerger le cylindre;

— faire tourner le cylindre dans le tube au moyen d'un agitateur en verre ou d'une tige de bambou afin de provoquer une première division des matières;

— retirer l'agitateur et agiter vigoureusement le tube à centrifuger bouché en le tenant contre la paume de la main de telle façon que le cylindre agisse comme mélangeur en frappant fortement le bouchon et légèrement l'autre extrémité du tube. Une bonne comminution est obtenue après une centaine de secousses vigoureuses;

— centrifuger 1 minute à 1.000 tours-minute;

— décanter les parties surnageantes;

— ajouter une solution saturée aux trois-quarts de chlorure de sodium et secouer doucement, par un mouvement latéral, afin de pénétrer le culot de la saumure; le cylindre agit à nouveau comme agitateur;

— ajouter de la saumure jusqu'à ras-bord et disposer le tube à centrifuger dans le porte-tube de la centrifugeuse. L'extrémité supérieure de ce porte-tube est hérissée de quatre cornes. Fermer le tube à centrifuger au moyen d'une lamelle 19×19 de 0 mm. 05 d'épaisseur posée à la suite d'un mouvement vertical de telle façon que ses côtés se trouvent en face des quatre cornes sans toutefois s'y appuyer, même légèrement; il se forme alors généralement une petite bulle d'air qui ne devra pas augmenter de volume pendant la centrifugation;

— centrifuger 1 minute à 1.000 tours-minute;

— retirer la lamelle en entraînant avec elle un peu du liquide surnageant qui est examiné en goutte pendante.

20° Procédé de K.-S. MHASKAR.

Ce procédé publié en 1923 (36) semble être une variante de la technique dite de « *Lévitacion* » de LANE perfectionnée par une application de la découverte de PEPPER (6). En effet, après filtration et centrifugation des matières fécales diluées, MHASKAR sépare les différents constituants du culot obtenu au moyen d'un liquide dense placé sur une lame. L'auteur ne recherche que le diagnostic de l'Ankylostome et ne généralise pas son procédé à la caractérisation des autres éléments parasitaires.

Technique :

- agiter soigneusement 1 cm³ de fèces avec 20 cm³ d'eau;
- passer à travers une gaze de 100 mailles au pouce linéaire dans un tube cylindrique. Laisser reposer 30 minutes;
- décanter, placer le dépôt sur la surface centrale d'une lame délimitée, comme dans la technique de « *Levitacion* », au moyen d'un crayon gras ou de vaseline;
- verser sur cette surface un liquide de densité 1,280 constitué par un mélange à parties égales de glycérine et d'une solution saturée de sulfate de magnésium, dans lequel on a dissous 5 % de gomme arabique;
- laisser reposer 2 minutes;
- au bout de ce temps, examiner la lame au microscope.

21° Procédé de M. KHALIL.

L'auteur a publié en 1924 (37) ce procédé dit de « *flottage par action indirecte de la pesanteur dans un*

Erlenmeyer ». Cette technique vise à la recherche des œufs permettant le diagnostic de la Bilharziose ou de l'Ankylostomose sans centrifugation.

KHALIL procède simplement par filtration des matières et flottage des œufs sur un liquide dense; comme NOLLER et OTTEN, il utilise un Erlenmeyer pour augmenter encore la concentration et sa technique est très proche de celle de ces auteurs :

Technique :

— désagréger des matières par agitation avec une solution saturée de chlorure de sodium. Passer à travers un tamis métallique de 100 mailles au pouce linéaire dans un flacon d'Erlenmeyer;

— ajouter de la solution dense jusqu'à ce que le niveau affleure le col du flacon;

— laisser reposer 15 minutes;

— collecter les œufs à la surface au moyen d'une öse et les examiner entre lame et lamelle.

22° Procédé de R. SIGALAS et R. PIROT.

Le procédé de SIGALAS et PIROT publié en 1924 (38) (39) est une modification de la technique de WILLIS.

Les auteurs préconisent, en effet, une dilution, un tamisage et une sédimentation dans l'eau physiologique puis un flottage sur une solution saturée de chlorure de sodium.

Technique :

— les selles à examiner sont broyées soigneusement à l'aide d'un agitateur et mises dans un grand flacon de 300 cm³ contenant une trentaine de grosses perles de verre. Ajouter environ 100 cm³ d'eau ordinaire filtrée et agiter vigoureusement jusqu'à obtention d'un liquide homogène;

— filtrer ce liquide sur une toile métallique à grandes mailles;

— recueillir le filtrat dans un verre à pied; prélever le sédiment ou, si celui-ci est mal isolé, décanter les couches supérieures qui sont remplacées par une nouvelle quantité d'eau filtrée;

— reprendre le sédiment par une solution saturée de chlorure de sodium dans un récipient cylindrique en verre de 6 cm. de haut sur 4 à 5 de diamètre;

— remplir jusqu'à ras-bord avec la saumure et couvrir d'une lame de verre bien plane de façon qu'aucune bulle d'air ne s'interpose entre le liquide et la lame. Abandonner alors le flacon 24 heures;

— au bout de ce temps, retourner la lame, couvrir un point d'une lamelle et examiner.

23° Procédé de L. CAUCHEMEZ.

Il a été publié en 1925 (40) pour l'examen des déjections d'herbivores.

La méthode de SIGALAS et PIROT ajoutait à celle de WILLIS un tamisage et une sédimentation dans l'eau physiologique; ces deux opérations sont conservées par CAUCHEMEZ mais il les effectue, ainsi que le flottage, dans une saumure à 15 % de sel marin marquant 15° Baumé, au lieu de la solution à saturation. En effet, dit-il, le liquide utilisé par WILLIS est une solution saturée marquant 23° Baumé à + 20° C., de densité 1,189; lorsque la température descend de + 20° C à + 10° C., cette saumure passe de 23° Baumé à 15° Baumé, car elle abandonne une partie de son sel et la densité devient parallèlement 1,116. En conséquence, CAUCHEMEZ montre que les œufs de densité comprise entre 1,189 et 1,116 flotteront à + 20° C. et tomberont à + 10° C., et c'est pourquoi il préconise la saumure à 15 % de sel marin.

Technique :

— mélanger au mortier les matières fécales avec 10 fois leur volume de saumure à 15 % de sel marin — 15° Baumé — ajoutée peu à peu au cours de l'opération (le mortier est recommandé par l'auteur car il est plus facile, selon lui, à nettoyer que tout autre moyen de comminution). Filtrer sur un tamis métallique à mailles de 1 mm. en agitant avec une baguette de verre;

— recueillir le liquide dans un cylindre de Borrel qui est rempli complètement. Au bout de 5 à 7 minutes, il se forme à la surface un bouchon végétal dont on se débarrasse en ajoutant doucement de la saumure au ras du tube de manière à faire écouler ces débris;

— disposer une lame de verre en contact avec la surface du liquide en évitant que toute bulle d'air vienne s'y interposer;

— le temps de contact du procédé de CAUCHEMEZ est de 2 à 3 heures, temps au bout duquel la lame est retournée, recouverte d'une lamelle et examinée;

— les œufs de Nématodes et les oocystes de Coccidies se collent sur la lame. Pour obtenir les œufs de Trématodes, l'auteur recommande de siphonner le liquide et d'examiner le culot.

24° Procédé de W. YORKE et A.-R.-D. ADAMS.

Alors que les techniques précédentes avaient surtout pour but la recherche des œufs d'Helminthes avec des liquides de différentes densités, la méthode de YORKE et ADAMS publiée en 1926 (41) est destinée à la détection des kystes d'Amibes par examen et cultures à partir de ceux-ci.

Comme SIGALAS et PIROT, YORKE et ADAMS effectuent tout d'abord un tamisage, puis deux sédimentations successives dans l'eau physiologique. N'étant généralement pas assez riches en kystes et par trop souillé de résidus alimentaires, le dépôt sédimentaire est additionné de sirop

de sucre et centrifugé: les kystes passent ainsi en suspension et sont collectés par centrifugation du sirop dilué.

Technique :

— prélever gros comme une noisette de matières et diluer dans 10 fois leur volume d'eau physiologique afin d'obtenir une émulsion homogène;

— filtrer sur une toile de bronze à mailles de 1 mm. en empêchant le colmatage avec un agitateur;

— laisser sédimenter 15 minutes dans un cylindre de verre et décanter le liquide qui est rejeté. Remplacer le liquide par de l'eau physiologique;

— laisser reposer une seconde fois pendant 12 heures; le liquide surnageant est rejeté comme à la première sédimentation. Laver le dépôt par centrifugations successives avec de l'eau physiologique;

— examiner le dépôt. Si les kystes sont peu nombreux, il est indispensable de pousser plus loin la concentration;

— rassembler le dépôt obtenu précédemment et le diluer dans un sirop de sucre à 20 % de densité 1,080;

— centrifuger une minute à 2.000 tours-minute. Les débris fécaloïdes forment un culot et les kystes restent en suspension dans le liquide sucré;

— décanter le sirop et le diluer dans quatre fois son volume d'eau;

— centrifuger une minute à 1.500 tours-minute; la densité de la solution s'étant abaissée, les kystes peuvent précipiter en formant un culot qui est lavé à plusieurs reprises avec de l'eau par centrifugation;

— les kystes obtenus peuvent donner lieu à culture sur milieu L. E. S. car ils sont débarrassés de presque tous les débris fécaloïdes.

**25° Procédé de W.-C. HAUSHEER, C.-A. HERRICK et
A.-S. PEARSE.**

Les modifications apportées en 1926 par ces auteurs (42) à la technique de WILLIS consistent non seulement dans l'emploi d'une solution de chlorure de sodium saturée aux trois-quarts, mais aussi dans la diminution du temps de contact qui est porté à 15 minutes maximum. Comme le procédé de WILLIS, celui-ci est établi pour la recherche exclusive de l'œuf d'*Ankylostome*.

Technique :

- mettre en suspension 1 à 2 grammes de fèces dans une solution saturée aux trois quarts de chlorure de sodium;
- remplir de cette solution jusqu'à ras-bord le récipient décrit dans la méthode de WILLIS et le couvrir exactement avec une lame;
- laisser en contact de 5 à 15 minutes;
- retirer la lame, la retourner sans perdre de liquide et l'examiner.

26° Procédé de H. BIDEGARAY.

C'est une simplification parue en 1929 (43) de la méthode précédemment décrite de YORKE et ADAMS, qui est combinée avec l'utilisation d'une méthode chimique que nous examinerons ultérieurement, celle de TELEMANN modifiée par LANGERON (72).

Technique :

a) *Procédé TELEMANN-LANGERON :*

- délayer dans un verre à pied avec de l'eau bouillie, gros comme un pois environ de la selle examinée, en s'aidant d'un agitateur en verre;

— passer la solution obtenue sur un tamis de bronze à mailles de 1 mm.;

— remplir avec la dilution tamisée le quart inférieur d'un tube à centrifuger — tube n° 1 —; y ajouter un demi-volume d'acide chlorhydrique dilué de moitié; boucher le tube, agiter, puis laisser l'acide agir quelques instants;

— ajouter à la dilution acide un volume égal d'éther et agiter;

— équilibrer ce tube avec un autre — tube n° 2 — rempli de la dilution tamisée. Centrifuger 5 tours de la centrifugeuse à main;

— décanter la partie surnageante du tube n° 2 dans un tube n° 3. L'auteur se débarrasse ainsi des gros éléments passés après le tamisage;

— équilibrer les tubes 1 et 3 et centrifuger 50 tours de manivelle;

— examiner le culot du tube n° 1 qui contient les éléments parasitaires; si l'on constate la présence de kystes, les identifier en suivant la seconde partie de la technique;

b) Procédé de YORKE et ADAMS modifié:

— décanter le tube n° 3 et recouvrir le culot avec une solution à 20 % de sucre de façon à remplir le tube après avoir procédé à un mélange soigneux;

— centrifuger à 50 tours de manivelle et décanter la partie surnageante dans un tube de Borrel; l'étendre de quatre fois son volume d'eau;

— la dilution obtenue est versée dans un tube n° 4 et centrifugée à 50 tours de manivelle;

— la partie surnageante est rejetée et finalement on examine le culot ou on met en culture sur milieu L. E. S. dans les mêmes conditions qu'avec la méthode YORKE et ADAMS.

27° Procédé de Jose BASUNUEVO et Vicente ANIDO.

Ce procédé a été publié en 1936 (44). Pour obtenir un enrichissement des matières fécales en éléments parasi-

taires, les auteurs utilisent une solution acéto-formolée de sucre de canne dans laquelle les fèces sont mises en suspension. Etant donné la densité de cette solution, les œufs d'Helminthes viennent à la surface et ils sont collectés sur une lamelle disposée de telle façon qu'elle affleure le niveau du liquide.

Technique :

— préparer une solution dont la composition est la suivante :

acide acétique crist.	100 cm ³
solution de formol à 35 %	100 cm ³
sucre de canne	550 gr.
eau.	Q. S. pour 1.000 cm ³

— mettre en suspension par agitation prolongée — 3 minutes environ — 1 gr. de fèces dans 15 cm³ de la solution sucrée formolée;

— filtrer à travers un tamis à mailles fines dans un tube cylindrique qui sera complètement rempli par addition de la même solution;

— laisser en repos 30 à 40 minutes et, au bout de ce temps, amener une lamelle en contact avec le niveau de la solution. La lamelle est ensuite disposée sur une lame et examinée.

28° Procédé de Charles-Franklin CRAIG et Ernest-Carroll FAUST.

C'est le premier procédé utilisant comme liquide dense une solution de sulfate de zinc; il a été publié en 1937 à Philadelphie (45).

L'année suivante, ce même procédé ainsi qu'un certain nombre de variantes ont été utilisées par E.-C. FAUST, W. SAWITZ, J. TOBIE, V. ODOM, C.-R. PERES et D. LINCICOME comparativement avec d'autres techniques et les résultats obtenus ont été publiés en 1939 (46).

Le principe directeur réside essentiellement dans une dilution des matières au $1/5^e$ dans l'eau physiologique, puis dans un lavage de cette suspension par centrifugations successives jusqu'à obtention d'un culot, qui est alors homogénéisé dans une solution de sulfate de zinc; par une ultime centrifugation, on fait monter les éléments parasitaires à la surface où ils sont collectés par différents moyens.

Technique :

— faire une suspension au $1/5^e$ des fèces dans de l'eau physiologique;

— filtrer sur une toile de 31 mailles au pouce linéaire;

— prélever 2 cm³ de cette dilution et les verser dans un tube de Wassermann. Ajouter de l'eau ordinaire jusqu'à 1 cm. des bords et mélanger soigneusement le tout;

— centrifuger 45 secondes à 2.640 tours-minute et décanter le liquide surnageant;

— additionner le culot d'eau ordinaire et agiter jusqu'à obtention d'une suspension homogène;

— centrifuger comme précédemment et répéter ces opérations jusqu'à ce que le liquide surnageant soit limpide, ce qui demande deux ou trois centrifugations;

— additionner le culot d'un centimètre cube environ de solution de sulfate de zinc de densité 1,180 et le mettre en suspension dans ce liquide; pour cela, taper le fond du tube avec l'index de façon à lui imprimer de petites secousses;

— compléter jusqu'à $1/2$ cm. des bords du tube avec la solution de sulfate de zinc;

— centrifuger 45 secondes, puis ajouter goutte à goutte de la solution de sulfate de zinc jusqu'à formation d'un ménisque convexe. Mettre en contact une lame avec le sommet du ménisque en prenant soin de ne pas effleurer les bords du tube avec cette lame;

— retourner la lame et l'examiner.

29° Procédé de E.-V. KALANTARJAN.

Ce procédé publié la première fois en langue allemande en 1927 (47) a été ensuite précisé en langue russe en 1938 (48).

L'originalité de la technique réside essentiellement dans l'utilisation d'une solution de nitrate de sodium de densité 1,400 sur laquelle s'effectue le flottage des éléments parasitaires et, particulièrement, selon l'auteur, des œufs de Trématodes.

Technique :

— mélanger un échantillon de fèces avec 10 fois son volume de solution de nitrate de sodium de densité 1,400;

— filtrer à travers une gaze et laisser le filtrat en repos;

— au bout de 10 à 15 minutes, prélever quelques gouttes à la surface et les examiner entre lame et lamelle.

DISCUSSION DES METHODES PHYSIQUES

Nous présentons la critique de ces différents procédés suivant leurs principes directeurs, c'est-à-dire la lévigation, la sédimentation par centrifugation et l'utilisation de liquides denses.

A. — LÉVIGATION.

Tout d'abord, il faut noter que les quatre techniques de lévigation tendent à la recherche d'un seul élément parasite: soit l'Ankylostome pour STILES, BOYCOTT-HALDANE ou PEPPER, soit le *Schistosoma mansoni* pour MORIN.

D'autre part, la lévigation ne peut produire une véritable homogénéisation puisque, de par sa définition même, les matières mises en suspension dans l'eau, doivent précipiter en même temps que l'élément figuré qu'elles peuvent contenir. De plus, après les travaux de J. THOULET (49), (50), (51), (52) et A. LAUBY (53), la loi physique suivante a pu être énoncée: « *Les corps tombent dans un liquide avec une vitesse uniforme et, d'autant plus lentement, qu'ils sont plus petits. Quant aux corps dont le diamètre est inférieur à 40 μ , la vitesse devient très irrégulière et même, au-dessous de 20 μ , une suspension commence à se produire* ». C'est là, le cas des éléments parasites — kystes de Protozoaires et même certains œufs d'Helminthes — qui restent en suspension. Ce n'est donc qu'un enrichissement partiel que l'on peut obtenir et ces techniques ne sont pratiquement plus utilisées.

Le procédé de MORIN reste applicable pour les œufs de

Schistosoma mansoni comme étant celui qui les détériore le moins et pour lesquels, étant donné leur volume, la loi de sédimentation lente s'applique au minimum. Les techniques données par STILES, BOYCOTT-HALDANE, PEPPER ont été reprises par d'autres auteurs qui les combinent, soit aux autres méthodes physiques, comme nous l'avons vu, soit à l'utilisation des solvants chimiques. En ce qui concerne la valeur exacte d'enrichissement de ces procédés, nous ne connaissons aucun contrôle possible et il n'a pas été publié de chiffres à ce sujet.

B. — SÉDIMENTATION PAR CENTRIFUGATION.

Les procédés tendant à enrichir en éléments parasitaires les préparations obtenues par centrifugation des fèces préalablement émulsionnées, représentent un perfectionnement des techniques de lévigation ; mais il semble que l'isolement des œufs d'Helminthes n'est pratiquement pas réalisé, puisque tous les auteurs tendent à ce résultat important par un artifice secondaire.

En effet, WHITE et FAUNTLEROY-HAYDEN effectuent un isolement virtuel par coloration des débris fécaloïdes au moyen de dérivés, soit de la thiodiphénylamine, soit du triphénylméthane, qui ne teintent pas les éléments figurés et BILLINGS-HICKEN pratiquent, pour arriver au même résultat, des centrifugations successives, à grande vitesse, qui ne peuvent qu'altérer la structure des éléments et rendre leur diagnostic malaisé ou impossible. Quant aux techniques de LANE dites « *Lévitation* » ou « *D. C. P.* », ce ne sont que des applications plus ou moins directes de la découverte de PEPPER sur l'adhérence de certains œufs à la lame de verre avec laquelle on les met en contact.

Le fait d'être contraint d'effectuer un isolement des éléments parasitaires par l'un de ces artifices nous paraît un critère de vérité suffisant pour affirmer que le culot obtenu

par la centrifugation seule contient beaucoup trop d'éléments non figurés pour que l'enrichissement soit véritable et les procédés utilisables avec profit.

Si les techniques de WHITE et FAUNTLEROY-HAYDEN présentent un intérêt pratique par leur exécution facile et leur polyvalence, il n'en est pas de même des trois autres procédés : en effet, les centrifugations successives préconisées par BILLINGS-HICKEN détériorent ou détruisent les œufs d'*Ankylostome*; quant aux deux procédés de LANE, ils nécessitent une habileté manuelle particulièrement grande — surtout celle dite de « *Lévitation* » — et l'auteur, lui-même, leur préfère d'autres techniques.

Le procédé de WHITE appelle une critique spéciale, car l'auteur utilise comme moyen de filtration deux couches de gaze superposées et l'emploi de ces étoffes comme tamis a été très discuté : il semble maintenant certain, après la publication des travaux de Kenichi USAMI et Ryonosuke KAMADA (54) que les filtres constitués par des gazes ou des soies à bluter à mailles fines retiennent *les deux tiers* des éléments figurés quelle que soit leur concentration dans les matières fécales.

C. — EMPLOI DE LIQUIDES DENSES.

C'est à la suite des procédés employés en lithographie, dérivant des lois physiques précédemment énoncées sur les corps en suspension, que les parasitologistes ont utilisé des liquides denses, pour la séparation des éléments figurés à partir, soit d'un culot de sédimentation ou de centrifugation, soit d'une comminution des matières au sein même de la solution.

Nous avons déjà montré l'insuffisance de la séparation produite par une simple centrifugation et aussi combien peut être partiel l'enrichissement acquis par la lévigation;

aussi, l'emploi de liquides denses permettant la montée et le flottage des éléments parasitaires représente-t-il un avantage important et très utilisé.

Toutefois le très grand nombre de techniques dérivant de ce principe général suffit à montrer que ce n'est pas encore avec cette méthode seule qu'un enrichissement sélectif peut être obtenu, ce qui s'explique par la trop faible différence entre les poids spécifiques propres aux différents constituants des matières.

Des techniques que nous citons, bien peu montrent une originalité suffisante pour permettre une critique particulière à chacune; aussi, nous avons pensé qu'il était préférable de les comparer entre elles plutôt que de les critiquer séparément et, pour cela, nous avons repris les différentes phases de la technique.

1° Traitement antérieur à l'emploi d'un liquide dense.

Presque toutes les techniques procèdent à une ou deux opérations avant la mise en suspension des éléments de la pâte fécale dans le liquide dense, opérations qui ont pour but d'effectuer un premier triage grossier.

C'est tout d'abord la mise en suspension dans l'eau physiologique, suivie d'une filtration, soit sur tamis, soit sur des tissus à mailles fines dont nous avons déjà examiné le pouvoir d'adhésion. Pour cette raison, le passage sur tamis tel que le conseillent BASS, UJIHARA, GARRISON, NOLLER-OTTEN par exemple, nous apparaît très supérieur à la filtration sur gaze chirurgicale ou soie à bluter, recommandée par HALL ou COCHRAN entre autres auteurs. Effectuée sur tamis métallique à larges mailles, il ne semble pas que cette opération préliminaire puisse agir autrement qu'en augmentant le pouvoir sélectif propre à ces méthodes. D'ailleurs, la plupart du temps, le tamisage précède une sédimentation ou une centrifugation, soit dans

l'eau, soit dans une solution à faible concentration du corps ultérieurement employé pour le flottage des œufs.

Le but recherché qui est la plus grande concentration possible des éléments parasitaires sous le plus faible volume est évidemment obtenu avec de meilleurs résultats par la centrifugation, car les œufs d'Helminthes et surtout les kystes de Protozoaires sédimentent très lentement.

Quoiqu'il en soit, c'est à partir du culot de centrifugation ou du sédiment provenant d'une lévigation préalable que s'effectue la séparation de leurs constituants.

2° Mise en suspension directe dans le liquide dense.

Au contraire, sans aucune phase préliminaire de séparation, certains auteurs mettent directement les fèces en suspension dans le liquide dense et en examinent ensuite les couches supérieures.

Ils procèdent ainsi, pourrait-on dire, à une lévigation renversée, mais le résultat n'en est guère meilleur; en effet, tous les corps microbiens qui forment la plus grande partie, en volume, des matières fécales, ayant une densité toujours inférieure à celle des éléments parasitaires, les accompagnent et les précèdent dans leur ascension; il en est de même pour certains débris alimentaires et le tout forme ce que CAUCHEMEZ nomme « *le bouchon végétal* ». Il est facile d'admettre qu'au milieu de cette trop grande quantité de débris hétérogènes, la recherche et le diagnostic des éléments figurés soit particulièrement difficile et la valeur d'enrichissement acquise pratiquement nulle, si ce n'est en coprologie vétérinaire où les œufs d'Helminthes, lorsqu'ils sont présents dans les fèces, y sont rarement en petit nombre.

C'est là l'inconvénient présenté par les techniques de TANAMI, BARBER, KOFOID-BARBER, FULLEBORN, KHALIL, SIGALAS-PIROT, CAUCHEMEZ, HAUSHEER-HER-

RICK-PEARSE. Pour remédier à l'ascension des éléments non figurés, quelques-uns de ces auteurs ont préconisé divers artifices dont la valeur est indéterminable : ainsi, KOFOID-BARBER laissent tomber dans le récipient, pendant que s'effectue la montée des éléments légers, une bourre de paille de fer, afin de retenir les constituants en suspension dans la dilution et de faciliter la descente des corps les plus denses ; mais les œufs d'Helminthes viennent aussi se fixer sur ce tamis bientôt immobile dans le fond du récipient, ce qui diminue la valeur d'enrichissement du procédé.

Plus simplement, FULLEBORN propose de décanter le contenu des couches supérieures. Ce n'est pas là toutefois une solution au problème, car l'examen de ces couches n'est ainsi facilité en aucune manière.

3° Discussion sur le choix du liquide dense.

Les solutions utilisables doivent toutes être de densité supérieure aux éléments parasitaires recherchés et aussi sans action possible, soit sur eux, soit sur la verrerie employée ; aussi critiquons-nous l'usage de silicate de sodium (VAJDA), car il est facile d'admettre que l'utilisation d'un corps aussi corrosif, non seulement pour le verre, mais aussi pour les éléments figurés, ne peut que nuire à l'examen microscopique qui doit s'effectuer entre lame et lamelle non dépolies.

La préférence des auteurs semble être allée aux sels de sodium et particulièrement aux solutions saturées de chlorure de sodium : HALL, TANAMI, KOFOID-BARBER, FULLEBORN, WILLIS, KHALIL, SIGALAS-PIROT... A densité égale, il nous paraît préférable d'utiliser d'autres électrolytes non saturés car la formation très rapide de cristaux de chlorure de sodium entre la lame et la lamelle d'observation, nous a toujours gêné dans l'examen microscopique qui ne peut s'effectuer en un très court laps de temps.

C'est pour cette raison, et aussi parce qu'il est intéressant à différents titres d'employer des solutions dans lesquelles le poids du corps dissous est proportionnellement plus faible pour la même densité, que différents auteurs (BASS, GARRISON...) ont utilisé le chlorure de calcium.

Quant aux solutions de sulfate de zinc, actuellement très employées aux Etats-Unis, il ne nous a pas semblé que leur pouvoir d'enrichissement était supérieur à certaines autres solutions, pas plus qu'il n'était lié à l'anion SO_4 ou au cathion Zn . Nous avons noté, au contraire, la fréquence des troubles ou louches obtenus avec ces solutions incompatibles avec les résidus de médicaments à base de sels de baryum ou de substances tannifères entre autres.

Parallèlement aux solutions minérales, nous avons relevé l'emploi de solutions de corps organiques, tels que le saccharose (SHEATHER), la glycérine simple (UJIHARA) ou additionnée soit de sulfate de magnésium (BARBER), soit de chlorure de sodium à saturation (DARLING-BARBER-HACKER). Ces solutions organiques présentent toutes une viscosité assez élevée pour que le flottage des œufs s'effectue moins facilement et surtout moins rapidement, les éléments les moins denses restant en suspension au sein du liquide en formant une véritable émulsion. C'est pour préciser la vitesse avec laquelle se déplacent les éléments parasites dans ces liquides, qu'il nous a semblé utile de rappeler, ici, la loi de STOKES.

En effet, suivant la loi de STOKES, si l'on considère une sphère de rayon R , se déplaçant avec une vitesse V , dans un liquide dont le coefficient de viscosité est N , elle est soumise à une force de frottement F qui est égale à $6\pi NRV$;

$$\text{donc, } V = \frac{F}{6\pi NR}$$

ce qui implique que la vitesse de la sphère est inversement proportionnelle au coefficient de viscosité.

Par application de cette loi, nous pouvons donc dire que l'augmentation de la viscosité obtenue par l'emploi de solutions organiques ne peut que diminuer la valeur d'enrichissement de ces méthodes, surtout lorsque le prélèvement s'effectue par prise directe de quelques gouttes à la surface du liquide, comme c'est le cas, par exemple, dans la technique de A.-L. SHEATHER.

4° Densité.

La densité optima de la solution serait celle qui ferait flotter les éléments parasitaires à l'exclusion des autres constituants de la pâte fécale. Comme les poids spécifiques des éléments parasitaires se situent entre ceux plus légers des corps bactériens et ceux plus denses des débris celluloseux et que, d'autre part, la densité est différente pour les œufs d'Helminthes et les kystes de Protozoaires, les auteurs ont utilisé des solutions variant entre 1,070 (UJIHARA) et 1,430 (VAJDA).

Certains auteurs, comme LANE par exemple, préconisent l'emploi de solutions de chlorure de sodium à des densités différentes pour chaque recherche à effectuer. C. LANE (28) (55) donne à ce sujet les résultats suivants trouvés par son procédé dit « *D. C. F.* » pour la recherche du Trichocéphale, avec des solutions dont la densité varie entre 1,200 et 1,400:

Œufs comptés à partir de 0 cm ³ 50 de selles			
Densités	1 ^{er} Examen	2 ^e Examen	3 ^e Examen
1,200	12	18	16
1,250	22	11	18
1,300	28	24	44
1,350	15	21	41
1,400	24	23	23

De la lecture de ce tableau, il apparaît que la densité de 1,300 convienne le mieux à la recherche des œufs de Trichocéphale.

Une autre question aussi importante semble être la détermination de la densité du liquide en vue de la recherche des œufs de Trématodes; presque tous les auteurs semblent s'accorder sur le fait que les œufs operculés ne flottent pas et c'est pourquoi CAUCHEMEZ fait le prélèvement de ceux-ci dans le fond du tube de lévigation. Au contraire, VAJDA a voulu utiliser une solution particulièrement dense — 1,430 — pour arriver à ce résultat; mais en dehors des inconvénients présentés par le liquide choisi : silicate de sodium, il ne nous semble pas que les résultats soient satisfaisants; en effet, nous avons constaté que si les œufs de Trématodes ne sont pas « *flottables* », c'est parce que leur opercule laisse pénétrer le milieu intérieur du zygote par la solution saline extérieure et empêche ainsi l'action indirecte de la pesanteur.

5° Temps de contact nécessaire à la montée des éléments parasitaires.

a) Flottage par action indirecte de la pesanteur.

Certaines techniques mettent les matières en suspension dans le liquide dense et font un prélèvement des couches supérieures après une simple action de la pesanteur. Presque tous les auteurs de ces techniques sont en désaccord sur le temps de contact, puisque nous pouvons noter pour la même solution dense des différences très importantes : ainsi WILLIS laisse en contact les matières et le liquide 5 minutes, FULLEBORN 45 minutes et SIGALAS-PIROT 24 heures... De par leur propre disproportion, ces chiffres apparaissent très discutables: la concentration du milieu intérieur de l'élément figuré étant notablement plus faible

que la solution avec laquelle il est en contact, la pression osmotique agit pour rétablir l'équilibre; c'est le temps nécessaire à l'établissement de cet équilibre qui doit déterminer le temps limite de contact, au delà duquel les œufs commencent à sédimenter; or, après 25 à 30 minutes en moyenne ce résultat est acquis.

b) *Flottage par action indirecte de la centrifugation.*

Si le désaccord est grand, comme nous venons de le montrer, pour la détermination du temps de contact nécessaire à la montée des œufs sous l'action de la pesanteur, il semble, au contraire, que les auteurs utilisant la centrifugation se rallient presque tous à une vitesse de centrifugation de 1.000 tours pendant 1 minute. Toutefois, TAUSSIG (56), prétend qu'un meilleur résultat est obtenu en lançant brusquement une centrifugeuse à 3.500 tours-minute pendant 10 secondes; cela nous paraît à la fois antimécanique et contraire à la bonne conservation de la structure des œufs d'Helminthes et surtout des kystes de Protozoaires.

Une seule centrifugation à 1.000 tours-minutes pendant 1 minute est-elle suffisante pour permettre la montée de tous les éléments figurés? Clayton LANE, dans son « D. C. F. », prétend qu'il faut, pour atteindre ce résultat, faire 4 centrifugations successives et il donne les chiffres suivants :

Nombre d'œufs d'Ankylostome trouvés

Centrifugations :

Première	Seconde	Troisième	Quatrième	Total
—	—	—	—	—
35	12	2	1	50
24	21	14	11	70

En examinant ces chiffres, ils semblerait qu'une seule centrifugation ne donne qu'environ la moitié du chiffre

total de l'élément recherché; selon nous, cette différence provient, non pas d'une centrifugation insuffisante, mais bien plutôt d'un prélèvement défectueux. En effet nous avons noté, selon l'auteur lui-même, que pendant cette centrifugation une bulle d'air vient s'interposer entre la lamelle et le niveau du liquide; si l'on arrive à supprimer cette bulle d'air par un procédé que nous donnerons ultérieurement, le prélèvement s'avère total après un temps de centrifugation même inférieur à une minute à une vitesse de 1.000 tours-minute.

6° Moyens utilisés pour le prélèvement:

La grande majorité des auteurs (GARRISON, WELLMAN, BARBER, KOFOID-BARBER, FULLEBORN...) procède par prélèvement au moyen d'une ôse de platine déplacée à la surface du liquide; la quantité prélevée de la sorte est généralement insuffisante et nous préférons l'emploi de pipettes à gros calibre, surtout pour le diagnostic de faibles infections.

D'autres auteurs (BASS, HALL, etc...) font un prélèvement global des parties supérieures ou même de la solution toute entière qui est ensuite dilué jusqu'à ce que la densité s'abaisse en-dessous du poids spécifique des éléments recherchés, puis par une ultime centrifugation ceux-ci sont rassemblés en un culot. Ce procédé présente le gros désavantage d'exiger une centrifugation supplémentaire toujours nuisible à la structure des éléments recherchés et aussi de diminuer le pouvoir sélectif de l'enrichissement acquis, puisque les différents constituants de la selle se retrouvent dans ce culot.

Pour diminuer les inconvénients de ces modes de prélèvement, DARLING-BARBER-HACKER collectent les œufs sur un disque d'agar-agar solidifié à la surface même du liquide; nous n'insisterons pas sur les difficultés pratiques

d'application qui sont évidentes. Un perfectionnement supérieur est apporté par SIGALAS-PIROT, CAUCHEMEZ, HAUSHEER-HERRICK-PEARSE qui collectent les œufs sur une lame de verre affleurant le ménisque du liquide : c'est une application simple du principe de PEPPER déjà défini. Presque identiquement, SHEATHER effleure le niveau du liquide avec une lamelle de verre fixée sur un agitateur, mais nous préférons le procédé précédent notablement plus pratique. Enfin, nous avons noté la technique de LANE — « *D. C. F.* » — qui centrifuge directement un tube fermé au moyen d'une lamelle ; mais comme celle-ci vient s'appliquer sur le tube à la suite d'un mouvement vertical de haut en bas et non latéralement, l'auteur reconnaît que presque toujours une bulle d'air vient s'interposer entre la solution et la lamelle. Or cette bulle, durant la centrifugation, balaye la surface de la lamelle et, en y détachant les éléments parasitaires, elle diminue la sensibilité du pouvoir enrichissant.

RÉSULTATS OBTENUS AVEC LES PROCÉDÉS UTILISANT LES LIQUIDES DENSES

Etant donné que, d'après l'exposé des techniques précédemment examinées, la plupart des auteurs n'ont presque jamais défini soit la quantité de selles sur laquelle ils opèrent, soit les constantes de centrifugation qu'ils emploient, ce n'est qu'entre quelques procédés seulement que peuvent s'effectuer les comparaisons des résultats obtenus. Les chiffres que nous donnons ont été publiés, soit par CHANDLER (57), soit par LANE (28), soit enfin par KHALIL (58).

Etant donné la grande utilisation du procédé de LANE dit « *D. C. F.* », les résultats sont donnés par rapport à ceux trouvés par celui-ci.

Chiffres fournis:

1° Avec le procédé de *Lévitation* (LANE) et le « D. C. F. ».

	Lévitation	« D.C.F. »
	—	—
Nombre	18	125
d'œufs	245	860
d'Ankylostome	273	650

2° Avec les différentes techniques du procédé de *flottage* dans un cylindre d'un demi pouce de diamètre (LANE) et le « D. C. F. ».

	«D.C.F.»	Flottage par action de la					
		PESANTEUR			CENTRIFUGATION		
		ménisque concave	ménisque convexe	sous lamelle	ménisque concave	ménisque convexe	sous lamelle
Nombre		8	27	12	36	107	114
d'œufs	988	338	410	319	520	754	
d'Ankylos-	165	17	14	15		61	73
tome	1.389				156	289	1.012

Ces chiffres sont fournis pour la recherche de l'Ankylostome à partir de 0 cm³ 50 de selles avec un liquide de flottage de densité 1,200.

3° Avec les techniques de WILLIS (la dilution étant de 1/30°) et de KOFOID-BARBER (la dilution étant de 1/80) et le « D. C. F. ».

DENSITÉS	« D. C. F. »		WILLIS		KOFOID-BARBER	
	1,150	1,200	1,150	1,200	1,150	1,200
	—	—	—	—	—	—
Nombre		223		151		108
d'œufs	897	988	832	979	934	1.038
d'Anky-		28	7			14
losto-	93	165	66	63	69	122
me.	823	554	272	532	535	502
	714	623				
	848	726				
	353	287	237	160	163	149
	434	371				
	28	93	22	14	20	31
	63	122				
	50	57				
	1.336	1.389	478	786		606
	1.487	1.500				
	1.005	1.581				
		564		357		313
		419		179		323
		471				
		487				
		30		1		18
		54				
		50				
		103		35		49

4° Avec le procédé de KHALIL et le « D. C. F. » de LANE à ses quatre temps de centrifugation.

Centrifugations	« D. C. F. »					KHALIL
	1	2	3	4	total	
	—	—	—	—	—	—
Nombre d'œufs	35	12	2	1	50	0
d'Ankylostome	24	21	14	11	70	3

L'examen de ces chiffres montre, au premier abord, combien le pouvoir d'enrichissement propre au « *D. C. F.* » de LANE est supérieur à celui des autres techniques proposées et c'est ce qui explique la grande utilisation de ce procédé.

Par leur rapide exécution rendant possible la détermination d'index parasitaires dans le minimum de temps, les méthodes aux liquides denses restent surtout des procédés de diagnostics spéciaux, plutôt que des moyens pour la recherche générale des parasites intestinaux.

2° MÉTHODES CHIMIQUES

Parallèlement aux méthodes physiques, nous avons rencontré un certain nombre de procédés utilisant pour la recherche parasitologique des solvants chimiques divers, mais si celles-là sont sans lien puissant entre elles, ceux-ci proviennent dans leur grande majorité de modifications apportées à une technique initiale, qui est celle de Walter TELEMANN.

A. — EMPLOI DE L'ETHER ET DE L'ACIDE CHLORHYDRIQUE COMME SOLVANTS

Méthode de Walter TELEMANN.

W. TELEMANN a publié en 1908 (59) la première méthode utilisant des produits chimiques comme solvants de certains constituants des matières fécales.

Il recherche un diagnostic pratique des parasites intestinaux en se basant sur une solubilité des débris d'origine alimentaire animale ou végétale, dans un mélange préparé extemporanément à parties égales d'acide chlorhydrique pur et d'éther. La suspension ainsi obtenue est passée à travers un tamis et ensuite centrifugée.

Par cette centrifugation, TELEMANN note dans son

mémoire que la suspension s'est divisée en trois couches qui sont ainsi constituées :

a) Une couche supérieure contenant les « graisses » dissoutes dans l'éther ;

b) Une couche médiane formée de corps microbiens et d'un amas de débris indéfinissables provenant des résidus d'origine alimentaire animale ou végétale ;

c) Enfin, le liquide chlorhydrique au-dessus du culot de centrifugation, lequel comporte les parties insolubles comme la cellulose et aussi les éléments figurés.

Technique :

— prélever en 5 endroits de la selle examinée, le volume d'une lentille de matières et mettre en suspension par agitation dans un mélange préparé extemporanément à parties égales d'éther et d'acide chlorhydrique pur ;

— filtrer et centrifuger une minute.

— rejeter les couches supérieures au culot obtenu dont on prélève quelques gouttes pour l'examen microscopique.

B. — MODIFICATIONS APPORTEES A LA METHODE DE W. TELEMANN.

1° Procédé de S. YAOITA.

L'auteur a publié cette technique en 1912 (60). Il recherche une véritable fluidification des matières fécales, comparable à celle qui est utilisée pour le diagnostic des bacilles de Koch dans les crachats. Pour obtenir ce résultat, YAOITA emploie, comme TELEMANN, l'éther sulfurique, mais il l'additionne d'antiformine. L'antiformine dont la formule semble due à UHLENHUTH et XYLANDER (61) est un mélange à parties égales d'hypochlorite de sodium et de soude caustique à 15 %.

Les matières fécales traitées par le mélange éther-antiformine sont ensuite tamisées et centrifugées de telle façon que les éléments parasitaires soient collectés dans le culot.

Technique :

— diluer gros comme un pois de matières avec 15 cm³ d'un mélange à parties égales préparé à l'avance d'antiformine à 25 % et d'éther sulfurique;

— secouer fortement dans un récipient garni de billes de verre et passer sur un tamis métallique;

— centrifuger une minute à 1.500 tours. Rejeter la partie supérieure au culot qui est examiné.

2° Procédé de MAC NEIL.

Dans ce procédé publié en 1913 (62), MAC NEIL préconise une technique très voisine de celle de YAOITA puis-

qu'il emploie, comme lui, l'antiformine et l'éther; mais au lieu de préparer le mélange préalablement, il préfère renforcer l'efficacité de l'antiformine par action de ce réactif à chaud sur les matières fécales. Puis il traite par l'éther et le reste de l'opération est le même que dans le procédé TELEMANN ou YAOITA.

Technique :

- diluer les matières fécales avec une solution d'antiformine à 25 %;
- chauffer légèrement sans faire bouillir;
- après refroidissement total, ajouter 5 % en volume d'éther;
- agiter, puis tamiser sur un tamis à mailles de 0 mm. 50;
- centrifuger et examiner quelques gouttes prélevées dans le culot, après décantation des parties supérieures.

3° Procédé de Yonegi MIYAGAWA.

Dans une publication parue en 1913 (63), MIYAGAWA, après avoir analysé et discuté la méthode de TELEMANN, expose son procédé de recherche des éléments parasitaires.

Au lieu d'utiliser l'acide chlorhydrique pur, comme TELEMANN, il emploie une dilution de ce réactif et en renforce l'action par un chauffage très léger. La technique est ensuite exactement la même que dans le procédé TELEMANN.

Technique :

- mettre dans un tube à essai de 7 cm. de hauteur contenant une solution d'acide chlorhydrique au demi, une particule de fèces du volume d'une noix environ. (Cette particule résultera de prélèvements effectués en trois ou quatre endroits différents de la selle à examiner.) ;

— agiter fortement pour provoquer une émulsion. Si les fèces ont une consistance trop dure, s'aider d'une baguette de verre;

— chauffer l'émulsion obtenue pour intensifier l'action de l'acide chlorhydrique qui dissout certaines « *matières azotées* », les phosphates et les carbonates;

— ajouter à cette émulsion partie égale d'éther et secouer le tube, tout doucement d'abord; enfin, mélanger les deux couches par une agitation intensifiée;

— filtrer ensuite à travers une gaze pour séparer les résidus alimentaires grossiers. Centrifuger le filtrat ainsi obtenu pendant une ou deux minutes et examiner une ou deux gouttes du culot, où se trouvent réunis les éléments parasitaires et les parties non dissoutes : cellulose, fibres musculaires...

4° Procédé de Knud SCHROEDER et Carl JORGENSEN.

Publiée en 1913 (64), cette modification à la méthode de TELEMANN repose, non seulement dans l'addition aux selles de bicarbonate de sodium avant le traitement par l'acide chlorhydrique, mais encore dans l'éclaircissement du culot obtenu par de la glycérine chlorhydrique en présence d'éther.

Technique :

— prélever en 5 ou 6 endroits de la selle des échantillons de la grosseur d'un pois. Au moyen d'une spatule, mélanger ce prélèvement avec une demi-cuillère de bicarbonate de potassium pulvérisé;

— traiter alors par 15 à 25 cm³ d'acide chlorhydrique dilué; agiter. Pour empêcher le bouillonnement produit, l'auteur propose d'ajouter 5 cm³ d'éther;

— filtrer à travers une gaze;

— agiter énergiquement avec un tiers en volume d'éther;

— centrifuger à grande vitesse pendant 5 minutes. Pour empê-

cher l'adhérence du disque formé à la partie supérieure du tube à centrifuger, on peut additionner le liquide d'un centimètre cube d'alcool à 90°, avant la centrifugation;

— examiner le culot qui contient les œufs d'Helminthes; si celui-ci a un volume supérieur à 0 cm³ 30 ou si le microscope révèle des débris volumineux, ajouter une solution aqueuse de glycérine à 80 %;

— centrifuger une minute à grande vitesse, décanter le liquide surnageant et l'étendre de plusieurs volumes d'acide chlorhydrique dilué;

— ajouter 2 cm³ d'éther, agiter et centrifuger 2 minutes;

— examiner finalement le culot obtenu.

5° Procédé de J.-W. CROPPER et R.-W. ROW.

C'est une modification de la méthode de TELEMANN parue en 1917 (65) et appliquée à la recherche des kystes de Protozoaires. En effet, CROPPER et ROW ne gardent des deux solvants employés par TELEMANN que l'éther sulfurique et rejettent le tamisage et l'utilisation d'acide chlorhydrique, remplacés par une mise en suspension des matières dans l'eau physiologique. Après traitement par l'éther de cette suspension, ils décantent le solvant et rassemblent par centrifugation les kystes contenus dans l'eau physiologique.

Technique :

— agiter, pendant 30 minutes environ, 1 gramme de fèces avec 30 cm³ d'eau physiologique afin d'obtenir une émulsion qui se sédimente lentement;

— agiter l'émulsion avec 15 % en volume d'éther sulfurique. Les débris fécaloïdes absorbables par l'éther se collectent au-dessus de la solution saline qui contient les éléments parasitaires;

— décanter la partie étherée;

— centrifuger 15 cm³ de la solution saline pendant 1 minute et demie à 1.200 tours-minute;

— le culot est alors examiné et contient, selon les auteurs, un matériel 15 fois plus riche en kystes que l'original.

CROPPER et ROW ont établi, dans la même publication, un autre procédé d'enrichissement, sans utiliser l'éther, pour l'obtention de kystes devant servir à la culture ou à la conservation.

Technique :

— après une émulsion par agitation de 5 minutes, passer la selle sur des tamis de soie à mailles de 40 μ ;

— centrifuger le filtrat une minute à 1.200 tours;

— rejeter les parties supérieures au culot qui est lavé, émulsionné dans de l'eau physiologique et centrifugé à nouveau. Répéter cette opération jusqu'à obtention d'un liquide clair surnageant;

— agiter enfin le culot avec 10 cm³ d'eau physiologique. Laisser sédimenter quelques minutes et centrifuger la partie supérieure. On obtient ainsi un dernier culot à partir duquel on effectue les cultures.

Ce procédé a été modifié en 1924 par C. MANA-LANG (66), qui utilise l'essence de pétrole à la place d'éther sulfurique et semble avoir obtenu de bons résultats avec ce solvant.

6° Procédé de Jacques CARLES et Edmond BARTHE-LEMY.

Les auteurs de ce procédé publié en 1917 (67), (68) n'ont gardé de la méthode TELEMANN que l'emploi d'éther sulfurique et ont remplacé l'acide chlorhydrique

par l'acide citrique qui, selon eux, détériore beaucoup moins les kystes de Protozoaires tout en gardant un pouvoir solubilisant aussi grand. Mais avant de faire agir l'éther et l'acide citrique, CARLES⁶ et BARTHÉLEMY font une succession de filtrations des matières préalablement émulsionnées dans l'eau physiologique, afin d'en séparer les éléments les plus grossiers.

Technique :

— triturer un poids de 20 à 25 gr. de matières avec une quantité suffisante d'eau physiologique afin d'obtenir une émulsion homogène, liquide;

— passer cette émulsion sur un tamis de laiton à mailles de 1 millimètre;

— filtrer sur un second tamis constitué par un carré de soie à 32 fils au centimètre, de 15 cm. de côté, dont les mailles ont des interstices d'environ 225 μ . Pour le cas de recherches spéciales et particulièrement de kystes de Protozoaires, les auteurs recommandent l'emploi de tamis n° 63 (63 fils au centimètre) à interstices de 100 μ — et n° 90 (90 fils au centimètre) à interstices de 73 μ ;

— centrifuger le filtrat une minute à 1.800 tours. Rejeter d'un mouvement brusque le liquide surnageant et ne conserver que le culot;

— diluer le culot dans le tube à centrifuger avec une solution citrique à 12 % formolée à 2 %, de densité 1,047. Ajouter une couche d'égale épaisseur d'éther sulfurique;

— agiter énergiquement de façon à détacher le culot et à l'émulsionner dans l'éther;

— centrifuger une seconde fois 30 secondes à 1.800 tours-minute; pendant cette centrifugation, l'éther s'étant séparé en dissolvant les graisses forme un « voile ». Des éléments parasitaires ayant pu être entraînés dans ce voile par le mouvement ascensionnel

de l'éther, les auteurs préconisent de le délayer avec une effilure de pipette fermée;

— les éléments les plus denses étant dégagés, centrifuger une troisième fois 30 secondes;

— rejeter le liquide surnageant pour ne conserver que le culot dont on examine quelques gouttes.

7° Procédé de William C. BOECK.

Ce procédé paru en 1917 (69) est un perfectionnement de la technique de CROPPER et ROW pour la recherche des kystes de Protozoaires.

L'auteur préconise, d'une part, l'emploi d'un mélangeur électrique « Cyclone » pour émulsionner les fèces afin de libérer les kystes des masses dans lesquelles ils pourraient être enfermés et de les répartir ainsi uniformément. D'autre part, il colore la pâte fécale au moyen d'une solution au 1/10.000^e de rouge neutre, avant de traiter par l'éther.

Technique :

— peser 1 gr. de matières et l'émulsionner 8 minutes dans 50 cm³ de solution physiologique;

— ajouter 5 cm³ d'une solution au rouge neutre à 1/10.000^e et l'émulsionner encore pendant 2 minutes;

— additionner l'émulsion colorée de 5 cm³ d'éther et mélanger au « Cyclone » 3 minutes, soit le temps nécessaire pour qu'elle commence à écumer;

— verser cette émulsion dans un entonnoir afin de décanter l'éther et d'enlever ainsi les débris fécaloïdes;

— la solution saline est centrifugée 3 minutes à 1.600 tours-minute;

— examiner une goutte du culot.

8° Procédé de L. BARD.

En 1918, cet auteur (70), s'inspirant des travaux de J. THOULET (49), (50), (51), (52) et A. LAUBY (53) sur la recherche des Diatomées dans les formations sédimentaires anciennes, utilise l'effervescence produite par un mélange d'acide chlorhydrique et de bicarbonate de sodium pour résoudre les particules alimentaires. Il collecte ensuite les éléments parasitaires par centrifugation, après s'être débarrassé des graisses par une addition d'éther.

Technique:

— mélanger les selles avec une cuillerée à café de bicarbonate de sodium;

— ajouter 15 à 25 cm³ d'acide chlorhydrique dilué;

— filtrer sur gaze;

— agiter le filtrat avec le tiers de son volume d'éther;

— centrifuger 5 minutes;

— si le précipité obtenu dépasse un tiers de centimètre cube, ou s'il contient, après examen microscopique, de trop grosses particules alimentaires, ajouter de la glycérine étendue d'un cinquième d'eau;

— décanter et ajouter une quantité égale d'acide chlorhydrique;

— centrifuger à nouveau et examiner quelques gouttes prélevées dans le culot.

9° Procédé de Y. RODENHUIS.

Pour certains, ce procédé aurait été découvert par BAYER dans le laboratoire de KUENEN à Amsterdam; il a été publié, pour la première fois, par RODENHUIS (71), en 1921.

Pour la recherche des kystes de Protozoaires, l'auteur utilise, comme solvant acide, une solution contenant environ 0 cm³ 66 % d'acide acétique associé à des sels de cuivre. Après dilution dans ce réactif, les matières fécales sont tamisées, additionnées d'éther et la solution est centrifugée.

Technique :

— par agitation dans un flacon de 100 cm³, émulsionner 1 cm³ de fèces avec 30 cm³ du mélange préparé de la façon suivante :

chlorure de cuivre.	0 gr. 60
acétate de cuivre	0 gr. 60
formol.	30 cm ³
eau camphrée.	150 cm ³
acide acétique crist.	4 cm ³
eau distillée.	420 cm ³

filtrer sur une gaze et placer le liquide dans un entonnoir à séparation;

— y ajouter 15 cm³ d'éther;

— soutirer le dépôt sous-jacent à la couche éthérée;

— centrifuger à faible vitesse le liquide soutiré pendant 3 minutes;

— examiner une goutte du culot de centrifugation.

10° Procédé de M. LANGERON.

Ce procédé a été publié initialement dans la première édition du « Précis de Microscopie » de cet auteur (72); puis il fut modifié dans les éditions suivantes. La technique donnée dans l'édition de 1925 et inspirée, selon LANGERON lui-même, des travaux de MIYAGAWA et de SCHROEDER-JORGENSEN décrits précédemment est une double modification de la méthode de TELEMANN: d'une part, l'auteur effectue un double tamisage des matières préala-

blement émulsionnées dans l'eau physiologique et, d'autre part, à la place d'acide chlorhydrique pur, il emploie une dilution au demi de cet acide.

Technique :

— prélever le volume d'un pois de matières en 5 ou 6 points différents de la selle examinée et l'introduire dans un flacon bouchant à l'émeri de 100 cm³;

— y ajouter une vingtaine de grosses billes de verre et une quantité suffisante d'eau physiologique pour recouvrir le tout; agiter jusqu'à obtention d'une suspension homogène;

— faire passer la suspension sur un tamis à toiles de bronze interchangeable n^{os} 70, 40 et 25 en s'aidant d'un agitateur mou de THOULET : cet agitateur est constitué par une baguette de verre à l'extrémité de laquelle est maintenu un tube de caoutchouc fermé par un bouchon de liège à bords arrondis;

— introduire le filtrat obtenu dans un tube bouchant à l'émeri et y ajouter la moitié de son volume d'un mélange à parties égales d'acide chlorhydrique et d'eau. Agiter vigoureusement;

— additionner le mélange acide obtenu de la moitié de son volume d'éther sulfurique jusqu'à obtention d'une émulsion homogène;

— centrifuger environ 75 tours d'une centrifugeuse à main et prélever le culot après s'être débarrassé des trois couches supérieures;

— examiner le culot qui contient les éléments parasitaires et les débris fécaloïdes denses.

11° Procédé de A. ROBIN.

Dans une publication faite en 1925 (73), l'auteur constate que le culot de centrifugation obtenu après traitement par la méthode de TELEMANN ou par quelque modification

que ce soit comporte, non seulement des éléments parasitaires, mais encore des débris végétaux d'origine alimentaire. Pour dissoudre et éliminer la majeure partie des débris celluloseux, ROBIN utilise le réactif de SCHEIWTZER. La préparation de ce réactif se fait d'avance par barbotage d'un courant d'air dans de l'ammoniaque mis en présence de tournure de cuivre.

Il enlève ensuite ce qui peut être soluble dans l'acide chlorhydrique dilué ou l'éther et par centrifugation collecte les œufs en un culot.

Technique :

— introduire dans un flacon contenant une vingtaine de perles de verre et 14 cm³ de réactif de SCHWEITZER, gros comme une noisette de matières fécales. Emulsionner;

— verser la suspension obtenue dans deux tubes à centrifugation et centrifuger 1 minute;

— rejeter les parties supérieures au culot et laver les tubes en les tenant verticaux, par agitation dans de l'eau sans toucher au sédiment. Ajouter à chaque culot 4 cm³ d'eau physiologique et agiter fortement;

— filtrer sur tamis métallique à mailles de 340 μ reposant sur un flacon à large ouverture et bouchant à l'émeri;

— ajouter 4 cm³ 50 du mélange :

acide chlorhydrique.	22 cm ³
formol.	34 cm ³
eau physiologique.	44 cm ³

et agiter 15 secondes environ;

— puis ajouter 12 cm³ 50 d'éther et agiter fortement pendant 15 secondes;

— répartir dans deux tubes à centrifugation et centrifuger 1 minute;

— rejeter brusquement le liquide d'un des tubes et examiner

quelques gouttes du culot. Si l'on est en présence de kystes de Protozoaires, l'auteur conseille d'examiner un peu du voile qui s'est formé dans le second tube à la limite de séparation de l'éther et du liquide sous-jacent, car c'est là que viennent se collecter, selon lui, les kystes de *Giardia intestinalis* en particulier.

12° Procédé de Ch. GARIN, G. DOUBROW et H. MOUNIER.

Cette modification à la méthode de TELEMANN parue en 1928 (74) consiste à employer comme solvant un mélange préparé à l'avance d'acide chlorhydrique et d'éther.

Technique :

— au moyen d'un agitateur, émulsionner dans un verre à pied 2 à 3 gr. de matières avec 15 à 20 fois leur volume d'eau;

— laisser reposer une minute;

— verser dans un tube à centrifuger 10 cm³ de la dilution obtenue précédemment et y ajouter 3 cm³ du réactif préparé de la façon suivante :

dans un flacon de 120 cm³ bouchant à l'émeri, ajouter à 30 cm³ d'acide chlorhydrique, 80 cm³ d'éther sulfurique en les versant par petites quantités: 10 cm³ environ. Cette addition doit se faire avec agitation sous un jet d'eau froide. Le mélange qui apparaît limpide lors de la préparation se sépare en deux couches par le repos, aussi doit-il être soigneusement agité avant l'emploi;

— après agitation du filtrat avec le réactif, centrifuger seulement 30 à 40 tours d'une centrifugeuse à main et examiner une goutte du culot.

13° Procédé de DAMASO de RIVAS.

C'est dans une publication faite en 1928 (75), que l'auteur propose de remplacer l'acide chlorhydrique pur employé par TELEMANN par l'acide acétique à 5 %. Le traitement par ce réactif a lieu en même temps que s'effectue la dilution des matières fécales.

Technique :

— introduire 2 à 3 gr. de matières dans un tube à essai et y ajouter environ 5 cm³ d'une solution à 5 % d'acide acétique par gramme de matières;

— agiter fortement jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène. Puis laisser sédimenter 35 à 40 secondes;

— filtrer sur toile ou sur un tamis métallique;

— ajouter à 5 cm³ du filtrat volume égal d'éther et verser dans un tube à centrifuger;

— agiter vigoureusement et centrifuger 50 tours de l'appareil à main;

— recueillir le sédiment avec une pipette capillaire et en examiner quelques gouttes entre lame et lamelle.

14° Procédé de M. RONDEAU du NOYER et R.-M. MIDY.

Cette modification à la méthode de TELEMANN a été publiée en 1932 (76). Les auteurs ont imaginé un dispositif permettant de collecter le culot obtenu par centrifugation sur une lamelle de verre qui est descendue dans le tube lui-même au moyen de l'instrument suivant :

— a) un petit plateau discoïdal en matière inoxydables portant

une échancrure sur son bord grâce à laquelle on peut saisir facilement la lamelle de verre qui le recouvre;

— b) deux tiges fines latérales supportant le plateau;

— c) un bouchon de liège dans lequel s'insèrent les extrémités des tiges, permettant de retirer l'ensemble du système.

Après traitement par l'une quelconque des méthodes étudiées précédemment, centrifuger le mélange éther acide dans un tube cylindrique à fond plat contenant ce dispositif; les éléments viennent se répartir de la sorte sur toute la surface de la lamelle qui est finalement examinée.

C. — EMPLOI DE DIVERS REACTIFS COMME SOLVANTS

1° Procédé de Ryonosuke KAMADA.

Ce procédé a été publié en 1922 (77). L'auteur utilise l'antiformine pour fluidifier les matières fécales: celles-ci sont traitées par ce réactif, centrifugées, et le culot obtenu mis en suspension dans une solution de chlorure de sodium est précipité par une seconde centrifugation.

Technique :

- triturer dans un verre 2 à 3 gr. de fèces avec une solution à 15 % d'antiformine;
- laisser sédimenter 1 à 2 minutes et reprendre par la même solution;
- centrifuger 2 à 3 minutes à 1.500 tours-minute et décanter;
- le culot est dilué dans 10 cm³ de solution de chlorure de sodium de densité 1,050;
- centrifuger une seconde fois pendant le même temps et à la même vitesse. Examiner le culot entre lame et lamelle.

Pour le même usage que l'antiformine, J. Allen SCOTT a mis au point, en 1937 (78), la formule d'un nouveau réactif. La préparation de ce solvant s'effectue de la manière suivante :

- mettre en suspension 400 gr. de chlorure de chaux dans 1.500 cm³ d'eau distillée;
- d'autre part dissoudre 440 gr. de carbonate de sodium dans 500 cm³ d'eau distillée;

— mélanger les deux solutions dans un flacon et agiter vigoureusement. Filtrer sur une plaque d'amiante en s'aidant d'une trompe à vide. Titrer la solution par chlorométrie;

— la solution est utilisée diluée à 30 %.

2° Procédé de E. BRUMPT.

M. le Professeur BRUMPT a publié en 1923 (79), un procédé d'enrichissement des fèces dans lequel l'antiformine, seule, est utilisée comme solvant :

Technique :

— mélanger dans un verre conique des fèces avec un volume moitié moindre d'antiformine pure;

— après quelques minutes de contact, diluer le mélange dans 20 à 30 fois son volume d'eau et tamiser;

— le sédiment récolté après centrifugation ou décantation du filtrat est réparti dans des fioles à fond plat contenant une solution de formol à 1 %;

— mettre à l'étuve à + 30° C.; en 4 jours, les œufs d'*Ascarides* présentent des embryons déjà très mobiles.

3° Procédé de Abdon-Eloy-Estellita LINS.

Dans ce procédé paru en 1936 (80), l'auteur emploie un liquide formo-acéto-chlorhydrique dans lequel se dissolvent les éléments non figurés.

Technique :

— préparer le liquide d'enrichissement de la façon suivante :

acide acétique.	5 cm ³
formol.	10 cm ³
acide chlorhydrique.	75 cm ³
eau distillée.	110 cm ³

— verser 1 cm³ de ce liquide dans un verre conique; y ajouter une égale quantité de fèces;

— émulsionner avec un agitateur puis compléter avec le réactif jusqu'à 20 cm³; agiter. Remplir des tubes à centrifuger avec l'émulsion et centrifuger 2 minutes;

— décanter le liquide surnageant et examiner le culot prélevé avec une pipette.

DISCUSSION DES METHODES UTILISANT LES SOLVANTS CHIMIQUES

Nous avons précédemment indiqué que la presque totalité de ces méthodes dérive de la technique initiale donnée par TELEMANN. Cette technique si souvent modifiée depuis sa publication représentait une innovation importante dans l'examen parasitologique des selles, si l'on considère qu'en 1908 celui-ci ne s'effectuait qu'avec les procédés de lévigation de STILES, BOYCOTT-HALDANE et de la méthode si compliquée au chlorure de calcium préconisée par BASS.

Contrairement aux méthodes physiques, les procédés chimiques utilisant pratiquement une même succession de phases techniques, nous avons pensé qu'il était préférable de discuter la valeur propre aux réactifs employés par chacun des auteurs.

L'inconvénient présenté par la méthode de TELEMANN réside dans l'emploi d'acide chlorhydrique pur, dont l'action dissolvante sur les éléments figurés modifie fréquemment l'aspect microscopique de certains œufs et particulièrement de ceux d'*Ascaris lumbricoides* dont la membrane externe peut même disparaître complètement. D'autre part, nous avons toujours constaté dans le culot de centrifugation obtenu un nombre tel de débris celluloseux et de fibres musculaires que la lecture de la préparation en est rendue extrêmement laborieuse. En dehors des difficultés ainsi apportées au diagnostic parasitologique, l'auteur lui-même reconnaît ainsi que L. QUADFLIEG dans une étude publiée en 1909 (81) que le mélange effectué par agitation de l'acide chlorhydrique pur et de l'éther présente certains risques.

Enfin, il est regrettable que TELEMANN n'ait pas défini dans sa publication, si précise en ce qui concerne les autres détails, la vitesse de la centrifugation, car nous avons noté dans les modifications proposées des différences allant de 30 tours d'une centrifugeuse à main (GARIN-DOUBROW-MOUNIER) jusqu'à 1.800 tours-minute (CARLES-BARTHELEMY).

C'est afin d'augmenter le pouvoir dissolvant sur les débris alimentaires et résoudre ainsi plus facilement le problème du diagnostic que les auteurs ont modifié la méthode de TELEMANN en conservant l'emploi de l'éther, mais en remplaçant l'acide chlorhydrique pur, soit par une solution de ce réactif, soit par d'autres solvants.

L'utilisation d'antiformine, soit à froid (YAOITA), soit à chaud (MAC NEIL), ne semble pas avoir donné de résultats préférables à la méthode initiale. Quant à l'emploi d'acide chlorhydrique dilué (MIYAGAWA, LANGERON) il semble que l'on diminue ainsi le pouvoir dissolvant de ce réactif tout en gardant ses inconvénients. En ce qui concerne le procédé GARIN-DOUBROW-MOUNIER ce n'est pas parce que ces auteurs conseillent d'effectuer la préparation du réactif éther-acide chlorhydrique pur, avant l'emploi, qu'ils en diminuent les inconvénients.

Nous avons noté précédemment que CARLES-BARTHELEMY proposent en remplacement de l'acide chlorhydrique pur, une solution citrique à 12 %, formolée à 2 %, de densité 1,047. Au sujet de cette modification importante, nous nous permettons les critiques suivantes : tout d'abord, la filtration sur tamis de soie ne peut que diminuer le pouvoir d'enrichissement du procédé; d'autre part, les auteurs fixent à 1,047 la densité de la solution formocitrique, sans tenir aucun compte de l'addition à ce réactif de son volume d'éther; or 1/12^e de l'éther s'y dissolvant, la densité s'abaisse à 1,023 et, par consé-

quent, les débris alimentaires de densité inférieure non pas à 1,047, mais bien à 1,023 peuvent précipiter, ce qui augmente la richesse du culot en éléments non figurés parfaitement indésirables. Enfin, les trois centrifugations proposées à 1.800 tours-minute nous ont montré qu'elles n'étaient pas compatibles avec la bonne conservation des éléments parasitaires et particulièrement des kystes de Protozoaires, pour le diagnostic desquels ce procédé a été initialement défini.

Le procédé de RIVAS, beaucoup plus rapide que le précédent, préconise une dilution des fèces dans une solution à 5 % d'acide acétique. Nous avons constaté que le pouvoir dissolvant de l'acide acétique envers les éléments non figurés se montre aussi important que celui de l'acide chlorhydrique dilué sans en présenter aucun des inconvénients.

Il est évident que l'emploi de l'éther seul par CROPPER-Row ne fait qu'augmenter la présence des débris alimentaires dans le culot de centrifugation, puisque quelques mois après la publication de cette technique, BOECK tentait de faciliter la lecture des préparations obtenues par une coloration de la pâte fécale au moyen d'une solution de rouge neutre.

Par la pratique du procédé de ROBIN, utilisant la dissolution des débris cellulotiques dans le réactif de SCHWEITZER, combinée au traitement à l'éther, nous avons rencontré de sérieuses difficultés pour laver ce réactif. Nous avons constaté en outre son action destructive sur les membranes externes des éléments parasitaires qui se présentent finalement altérés à l'excès dans leur ensemble.

Au contraire, le réactif de RODENHUIS — mélange de sels de cuivre en milieu formo-acéto-camphré — semble ajouter à celui de l'éther un pouvoir dissolvant propre, sensiblement aussi grand que le réactif de SCHWEITZER dans

le procédé précédent, sans avoir l'inconvénient d'altérer même les kystes de Protozoaires.

Quant au procédé de BARD, nous avons constaté que le dégagement d'acide carbonique produit au sein même de la suspension de fèces, ne provoque pas une comminution suffisante pour que les matières soient assez divisées. D'ailleurs l'auteur conseille pour remédier à cet inconvénient, d'effectuer ultérieurement une filtration sur gaze... Là encore, la même critique est à présenter et, d'autre part, il est regrettable que l'auteur n'ait pas cru devoir indiquer dans sa publication quelle était la quantité de bicarbonate de sodium à utiliser par rapport au poids de selles prélevées.

RÉSULTATS OBTENUS AVEC LES MÉTHODES CHIMIQUES

Nous avons trouvé, au sujet des résultats obtenus par ces différents procédés d'enrichissement, une étude assez importante publiée par PIROT (39) que nous résumons dans le tableau suivant

Pourcentages obtenus avec les procédés de :

ŒUFS DE	YAOITA	CARLES et BARTHELEMY	CROPPER ET ROW	BARD	LANGERON
<i>Trichuris trichiura</i> . . .	24,5	43	6	22	43,5
<i>Ascaris lumbricoïdes</i> . . .	17	25	14	23	15
<i>Necator americanus</i> . . .	50	40	12	60	92
<i>Enterobius vermicularis</i> . .	21	45	—	18	55

Excepté les résultats obtenus par la technique de CROPPER-ROW, dus à l'emploi de l'éther seul comme solvant, ces chiffres montrent assez bien que les différentes modifications apportées à la méthode de TELEMANN possèdent une valeur d'enrichissement propre presque identique.

Mais le grand intérêt présenté par ces méthodes réside surtout dans le fait de leur polyvalence de recherches vis-à-vis des différents éléments parasitaires, alors que les méthodes physiques à haut pouvoir enrichissant restent souvent limitées à un diagnostic particulier.

CHAPITRE II

MÉTHODES DE NUMÉRATION DES ŒUFS D'HELMINTHES

La bibliographie concernant les méthodes de numération des œufs d'Helminthes fait apparaître un nombre restreint de procédés, dérivant pratiquement tous les uns des autres et dont l'infime minorité, seulement, permet de compter indifféremment les œufs de Plathelminthes et ceux de Némathelminthes.

Nous avons rangé les méthodes que nous exposons plus loin en deux paragraphes : tout d'abord celles permettant la numération de tous les œufs d'Helminthes, et ensuite celles ne visant que certains ordres ou même certains genres. Et dans chacun de ces paragraphes, comme pour les méthodes de recherche, l'ordre qui nous a guidé a été de les exposer chronologiquement.

Le plan qui découle naturellement de ces considérations est le suivant :

1° Méthodes générales :

- a) Méthode de E. BRUMPT;
- b) Méthode de N.-R. STOLL et ses modifications.

2° Méthodes applicables à des cas particuliers :

- a) Méthodes de numération des œufs d'Ankylostome;
- b) Méthodes de numération des œufs de *Schistosoma mansoni*.

Nous devons toutefois noter que la méthode de N.-R. STOLL et ses diverses modifications primitivement publiées pour la numération des œufs d'Ankylostome doivent être considérées comme susceptibles d'application générale et c'est pourquoi nous les avons rangées dans le premier paragraphe. Au contraire les deux méthodes de numération des œufs de *Schistosoma mansoni*, dont le principe peut être appliqué à tous les œufs en général, ont été spécialement adaptées à ce genre par les détails de leur technique.

1° MÉTHODES GÉNÉRALES

A. — METHODE DE E. BRUMPT.

Cette méthode a été publiée en 1911 (82) pour la recherche des parasites des Herbivores.

Les matières mises en suspension dans l'eau sont tamisées et additionnées de formol. L'auteur laisse ensuite sédimenter et il compte les œufs contenus dans un volume déterminé de ce sédiment.

Technique :

— peser 5 gr. de matières et les diluer dans 10 à 20 cm³ d'eau suivant la nature des déjections;

— homogénéiser soigneusement et passer sur tamis à mailles de 1 mm.; laver le tamis deux fois avec la même quantité d'eau que précédemment. Réunir les trois filtrats obtenus;

— additionner de 1/20^e de formol afin de fixer les œufs au stade de leur expulsion et de décolorer la substance végétale des fèces;

— laisser sédimenter de 12 à 24 heures;

— au bout de ce temps, décanter et peser le résidu. Si celui-ci pèse, par exemple 20 grammes, 4 grammes représenteront 1 gramme de matières. Déterminer alors le nombre de gouttes correspondant à 1 gramme de la dilution rendue homogène, soit de 20 à 30 selon le calibre du compte-gouttes;

— examiner 1 ou 2 gouttes entre lame et lamelle et compter les œufs; on rapportera à 1 gramme de matières le chiffre trouvé.

B. — METHODE DE NORMAN R. STOLL.

a) MÉTHODE INITIALE.

La première méthode de STOLL a paru en 1923 (83). Une quantité déterminée de fèces est mise en suspension dans une solution décinormale de soude. On prélève un volume défini du liquide ainsi obtenu que l'on dispose entre lame et lamelle; on compte ensuite les œufs qui se trouvent dans la préparation.

Technique :

— dans un tube à centrifuger gradué à 45 cm³, peser par différence 3 grammes de matières;

— verser dans le tube une solution de soude décinormale jusqu'au trait des 45 cm³;

— ajouter 10 perles de verre de 3 mm. de diamètre; boucher le tube et l'agiter vigoureusement jusqu'à obtention d'une suspension homogène. Ce résultat est obtenu en 1 minute;

— prélever immédiatement à la pipette bactériologique graduée 0 cm³ 15 et les déposer au centre d'une lame de deux pouces sur trois. Recouvrir avec une lamelle 22×40. Compter les œufs dans la préparation au moyen d'un microscope à platine mobile;

— le nombre trouvé multiplié par 100 représente le nombre d'œufs par gramme de matières.

b) MODIFICATIONS A CETTE MÉTHODE.

1° Modification de Asa-C. CHANDLER.

La première modification de la méthode de STOLL est due à CHANDLER, elle a paru en 1925 (84).

La technique proposée par cet auteur est la suivante :

- diluer 3 gr. de selles dans 90 cm³ de soude décinormale;
- agiter jusqu'à obtention d'une suspension parfaitement homogène;
- prélever 0 cm³ 30 au moyen d'une pipette graduée et les déposer sur une lame;
- sans recouvrir d'une lamelle, compter les œufs présents dans cette prise d'essai;
- faire un nouveau prélèvement d'un volume identique et effectuer la numération dans les mêmes conditions que précédemment;
- la moyenne des deux nombres ainsi trouvés multipliée par 100 donne le nombre d'œufs par gramme de matières.

2° Modifications de W.-W. CORT, J.-B. GRANT, N.-R. STOLL et leurs collaborateurs.

Dans un important rapport, publié en 1926 (85) CORT, GRANT et STOLL ont proposé la technique suivante :

- classer la selle dans l'une des trois catégories suivantes : moulée, pâteuse ou diarrhéique; pour cela une selle est considérée comme pâteuse si elle peut être aisément remuée avec une spatule, et diarrhéique s'il est nécessaire d'utiliser une cuiller pour la prélever;
- dans un flacon en verre épais, gradué à 15, 30, 45, 60 et 75 cm³, placer un échantillon de la selle examinée, soit 1, 2, 3, 4 ou 5 grammes, pesés par différence;
- ajouter 15 cm³ de soude décinormale par gramme de fèces;
- produire une mise en suspension parfaite par agitation avec des perles de verre. Puis immédiatement, prélever 0 cm³ 15 du liquide obtenu à l'aide d'une pipette graduée et les disposer sur une lame de 3 pouces sur 2. Recouvrir d'une lamelle 22×22 ou 22×40;

— compter le nombre total d'œufs se trouvant dans la préparation;

— il sera utile de faire cette numération sur deux lames au moins. Multiplier les résultats obtenus par 100, ce qui donnera le nombre d'œufs par gramme de selle;

— on doit considérer ces résultats comme exacts pour des selles moulées, alors que, s'il s'agit de selles pâteuses, il sera nécessaire de multiplier par 2 le chiffre trouvé et par 4 pour des selles diarrhéiques.

La modification apportée par CORT-GRANT-STOLL à la méthode initiale réside donc, non seulement dans la possibilité d'utiliser jusqu'à cinq grammes de matières, mais encore dans l'emploi de coefficients permettant de modifier les chiffres moyens obtenus selon la consistance propre à la selle.

3° Modifications de N.-R. STOLL et W.-C. HAUSHEER.

Ces auteurs ont proposé en 1926 (86), (87) les deux modifications suivantes :

— a) mesurer ainsi 4 cm³ de selles : introduire une dizaine de perles de verre dans un Erlenmeyer portant sur son col deux traits de jauge, l'un à 56 cm³, le second à 60 cm³; verser de la soude décinormale jusqu'au trait 56. Laisser tomber dans le flacon des fragments de la selle à examiner jusqu'à ce que le ménisque atteigne la division 60;

— b) le volume du prélèvement à effectuer est réduit de 0 cm³ 15 à 0 cm³ 075 et le nombre d'œufs trouvé est reporté à un centimètre cube de matières.

La même année, W.-C. HAUSHEER, C.-A. HERRICK et A.-S. PEARSE (42) ont publié un travail relatif à la

modification précédente où ils montrent que le prélèvement de 0 cc. 075 donne de bons résultats lorsqu'il s'agit d'infestations massives mais se montre insuffisant pour des numérations inférieures à 50 œufs au gramme.

4° Modifications de Fred C. CALDWELL et Elfreda L. CALDWELL.

Ces auteurs ont proposé en 1926 (88) le remplacement de la soude par l'antiformine et l'addition de sucre à la suspension obtenue dans le but d'en augmenter la viscosité et par suite la stabilité :

Technique:

— peser par différence 4 gr. de fèces dans un tube jaugé à 40 cm³;

— ajouter 4 cm³ d'antiformine et agiter avec une baguette de verre rodée. Laisser en contact une heure;

— compléter à 40 cm³ avec une solution de sucre de poids spécifique 1,230;

— agiter, retirer la baguette et assurer la suspension par insufflation d'air à l'aide d'une pipette bactériologique;

— prélever à la pipette 1 cm³ de la suspension et compter les œufs contenus dans ce volume. Multiplier le chiffre obtenu par 100 pour déterminer le nombre d'œufs par gramme de selle.

5° Modification de Johannes ZSCHUCKE.

L'auteur a proposé en 1931 (89) l'emploi d'un réseau quadrillé spécial pour la numération des œufs exécutée selon la technique de STOLL en tenant compte des modifications de HAUSHEER.

La prise d'essai, qui reste de 0 cm³ 075 et sur laquelle s'effectue la numération, est versée par capillarité dans une cellule du type BURCKER utilisée en hématologie et recouverte préalablement d'une lamelle. Cette cellule possède un champ de numération rectangulaire, de 15 mm. de largeur, de 25 mm. de longueur et est divisée en 1.500 carrés de 0 mm. 5 de côté; 6 lignes plus épaisses définissent 15 grands carrés de 5 mm. de côté et 5 colonnes rectangulaires de 5 mm. de largeur et 15 mm. de longueur. Lorsque l'on examine le champ de numération en allant de gauche à droite, on lit en face de chacun des rectangles les chiffres suivants: 2, 5; 1, 7; 1, 25; 1.

Pour des selles pauvres en œufs, le nombre trouvé par la numération multiplié par 200 donne le nombre d'œufs au centimètre cube. Si les œufs sont très nombreux, on effectue la numération dans un certain nombre de grands carrés ou de rectangles et le nombre ainsi défini est multiplié par 200 et par le facteur inscrit sur le verre correspondant à chacun des rectangles.

2° MÉTHODES PARTICULIÈRES

A. — NUMERATION DES ŒUFS D'ANKYLOSTOME.

MÉTHODE DE S.-L. HUNG.

Cette technique de numération appelée couramment « *Méthode de Hambourg à la lamelle* » et qui dérive de celle de WILLIS a été publiée en 1926 (90).

Comme dans la méthode de WILLIS, une quantité déterminée de fèces est mise en suspension dans un volume défini de solution saturée de chlorure de sodium, à la surface de laquelle on dispose trois lamelles. Les œufs d'Ankylostome viennent se coller sur ces lamelles qui sont ensuite examinées et sur lesquelles s'effectue la numération. On rapporte ensuite à un gramme de fèces au moyen d'une simple formule faisant intervenir le rayon du cylindre dans lequel s'effectue le flottage des œufs, le chiffre moyen des œufs comptés sur les trois lamelles et la surface de ces lamelles.

Technique :

— préparer un cylindre de verre d'environ 5 cm. de diamètre, dans le fond duquel est disposée une cupule : on réalise facilement ce dispositif au moyen de paraffine;

— placer 2 grammes de matières dans la cupule et ajouter une

solution de chlorure de sodium à saturation, jusqu'à ce qu'elle recouvre les matières;

— mettre à flotter sur la surface du liquide trois lamelles qui, enlevées au bout de 10 minutes, seront retournées sur trois lames;

— compter le nombre d'œufs présents sur chacune des lamelles et en faire la moyenne: soit a . Si r est le rayon du cylindre employé, n le côté de la lamelle utilisée, le nombre d'œufs présents dans 2 grammes de fèces est donné par la formule:

$$\frac{a \pi r^2}{n^2}$$

et pour 1 gramme par :

$$\frac{a \pi r^2}{2 n^2}$$

L'auteur détermine, d'autre part, les coefficients à employer selon le nombre d'œufs trouvés:

si le nombre est en-dessous de 300, le chiffre est réel;

s'il est entre 300 et 500, on ajoute $1/14$;

s'il est entre 500 et 650, on ajoute $1/5$;

s'il est au-dessus de 650, on ajoute $1/3$.

Modification de F. FULLEBORN.

En 1927 (91), FULLEBORN a modifié la technique précédente en proposant l'emploi de boîtes en laiton au lieu de cylindres de verre. Il utilise des boîtes cylindriques de 52 mm. de diamètre, en laiton léger, dans le fond desquelles est emboutie une coupelle pouvant contenir environ 1 gramme de selles et dont le couvercle retourné peut servir de support à l'ensemble.

D'autre part, FULLEBORN recommande, pour faciliter la numération des œufs, l'emploi d'un réseau quadrillé au

millimètre qui est monté de la façon suivante : un papier millimétrique éclairci à l'huile de cèdre est collé sur une lame au moyen de baume du Canada et recouvert d'une lamelle enduite également de baume; on peut, de même, monter la photographie du quadrillage sur pellicule.

La technique est exactement la même que celle de HUNG, mais la numération, lorsque les œufs sont très nombreux, s'effectue sur 10 carrés de 1 mm. de côté pour chacune des trois lamelles. La moyenne des trente chiffres multipliée par 324, c'est-à-dire la surface de la lamelle (18×18) donne le chiffre moyen des œufs par lamelle. Selon la quantité des œufs, la numération s'effectuera soit sur la surface totale des trois lamelles — 972 mm^2 —, soit sur des surfaces plus petites.

B. — NUMERATION DES ŒUFS DE *SCHISTOSOMA MANSONI*.

1° Méthode de W.-A. HOFFMAN, J.-A. PONS et A.-L. JANER.

Cette méthode de numération des œufs de *Schistosoma mansoni* dans les matières fécales a été publiée en 1934 à Porto-Rico (92).

Les matières mises en suspension dans de l'eau sont tamisées et laissées sédimenter. Après décantation, un volume défini du sédiment est prélevé, sur lequel s'effectue la numération des éléments figurés recherchés.

Technique:

— un gramme de fèces est dilué dans 2 onces d'eau, soit 56 cm^3 70 et agité pendant 15 à 20 minutes;

— passer rapidement sur un tamis de 80 à 100 mailles au pouce linéaire;

— laisser sédimenter dans un verre conique aussi longtemps qu'on le jugera nécessaire. Comme les œufs peuvent rester sur les parois du verre, aider leur sédimentation en imprimant de petites secousses au récipient ou en remuant doucement son contenu;

— décanter soigneusement la moitié du contenu du verre et prélever, à l'aide d'une pipette de STOLL, 0 cm³ 075 du sédiment. Effectuer la numération des œufs contenus dans cette prise.

2° Méthode de A.-Vianna MARTINS.

Le principe de cette méthode publiée en 1937 (93) est identique à l'idée directrice du premier procédé; tous deux tendent à réaliser la numération des œufs de *Schistosoma mansoni* et seuls diffèrent quelques détails de technique.

— au lieu d'opérer sur 1 gramme de fèces, l'auteur en prélève 2 grammes qui sont dilués dans 10 cm³ d'eau, puis après comminution dans un cylindre de Borrel, il ajoute peu à peu 20 cm³ d'eau. Le reste de la technique se poursuit comme précédemment, mais la numération s'effectue sur un volume de 0 cm³ 050 et non sur 0 cm³ 075.

CHAPITRE III

ESSAI SUR UNE NOUVELLE MÉTHODE EN VUE D'UN DIAGNOSTIC QUALITATIF ET QUANTITATIF DES ÉLÉMENTS PARASITAIRES DANS LES MATIÈRES FÉCALES

Dans les chapitres qui précèdent, nous avons étudié les différentes méthodes proposées pour la recherche des éléments parasitaires et leur numération dans les matières fécales par enrichissement de celles-ci au moyen de procédés physiques ou chimiques.

Nous avons remarqué que les méthodes de numération sont distinctes des méthodes de recherche bien que toujours basées sur les mêmes principes et qu'elles ne sont applicables, dans leur ensemble, qu'à une espèce de parasite bien définie. De même les méthodes de recherche n'ont pas un but commun, puisque les unes sont utilisées pour la détermination d'index parasitaires et les autres employées dans les laboratoires, pour le diagnostic des helminthiases en général. Ce sont surtout les méthodes physiques employées aux Etats-Unis d'Amérique qui tendent au premier but — lutte contre l'*Ankylostome* —, alors que les procédés chimiques, moins rapides mais polyvalents et plus exacts remplissent mieux les conditions exigées pour une technique de laboratoire.

Mais quel que soit le but envisagé, il n'existe pas encore, à notre connaissance, de méthodes déterminant qualitativement et quantitativement les éléments parasitaires en une seule opération bien que l'utilité d'un semblable résultat paraîsse incontestable. En effet, l'importance de nombreuses parasitoses, leur degré pathologique même, comme celui de la *Trichocéphalose*, réside pour beaucoup de cliniciens dans la définition du nombre d'éléments pathogènes observés dans les selles, au moins autant que dans la détermination du parasite rencontré. Puisque, seule, la numération des œufs d'*Helminthes* dans une selle permet d'établir le nombre « moyen » d'adultes présents chez l'hôte, ce n'est qu'avec cette donnée quantitative que l'on peut suivre un traitement anthelminthique chez le malade et éta-

blir la détermination exacte du seuil d'action du médicament employé.

Il est aisé de concevoir, dans ces conditions, que la détermination quantitative des Helminthes chez un malade peut prendre dans la recherche parasitologique la place si importante qu'occupe en hématologie la numération des éléments globulaires du sang.

C'est pour ces raisons que nous avons tenté de résoudre la question de la numération des éléments parasitaires dans les selles, en proposant une nouvelle méthode d'enrichissement des fèces, qui permette d'effectuer en une seule opération le diagnostic et la numération des éléments parasitaires.

Ayant observé, comme de nombreux parasitologues, que les préparations obtenues par les méthodes tant chimiques que physiques sont toujours encombrées des éléments non figurés de la selle examinée, ce qui ne fait que nuire au diagnostic et, par conséquent à une numération éventuelle des éléments parasitaires, nous avons essayé de séparer la totalité de ceux-ci du reste de la pâte fécale, aussi complètement que possible et de les rassembler sous un faible volume.

Pour atteindre ce but, nous avons combiné l'utilisation de solvants chimiques réalisant un premier fractionnement de divers constituants de la selle examinée avec l'application de principes physiques destinés à porter à son plus haut degré la séparation de la totalité des éléments parasitaires; c'est donc une méthode physico-chimique nouvelle dont nous présentons le principe dans le paragraphe suivant.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Pour isoler la totalité des éléments parasitaires contenus dans un volume défini de matières fécales, nous avons basé notre méthode sur les deux principes suivants :

1° Fractionnement, au moyen de réactifs chimiques, des divers constituants d'un volume connu de la selle, afin d'isoler les éléments parasitaires avec le minimum d'éléments figurés.

2° Séparation par des moyens physiques de la fraction riche en éléments figurés ainsi obtenue, jusqu'à présentation sélective sous le plus faible volume de la totalité des éléments parasitaires.

Les différentes phases observées sont les suivantes :

1° FRACTIONNEMENT PAR ACTION CHIMIQUE DES DIVERS CONSTITUANTS DE LA SELLE.

Une quantité définie de matières fécales provenant de divers prélèvements effectués sur une même selle est tamisée dans un volume connu d'une solution aqueuse d'acide trichloracétique en présence de formol. Le passage à travers les mailles de 1 mm. et 0 mm. 50 n'arrête pas les éléments parasitaires et permet l'isolement des gros éléments des fèces ainsi que la mise en évidence de certains parasites adultes ou de leurs parties.

Par suite du pH acide de la solution, nous obtenons une première solubilisation partielle des matières : l'acide trichloracétique, d'une part dissolvant le mucus et une grande partie des sels et, d'autre part, facilitant l'émulsion et la saponification des graisses. L'ionisation de la solution est trop faible cependant pour qu'il se produise une lyse même

partielle des membranes externes des éléments figurés qui sont fixés, à leur stade d'émission dans la selle, par le formol. La présence de cet aldéhyde dans le réactif permet la décoloration des résidus alimentaires d'origine végétale et une désodorisation des fèces.

La dilution acide de matières ainsi obtenue est ensuite agitée au moyen d'un dispositif mécanique approprié avec un volume défini d'éther ou d'oxyde d'isopropyle jusqu'à formation d'une émulsion complète. Laisseée en repos quelques instants, la mise en suspension cesse et l'éther ou l'oxyde d'isopropyle se sépare à la partie supérieure, chargé des graisses et des matières colorantes. En-dessous se forme un disque épais composé de corps bactériens et de détritits microscopiques indéterminables, de faible densité, et dans lequel peuvent se présenter, par suite du mouvement ascensionnel qu'ils ont suivi, un certain nombre de kystes de Protozoaires ou d'œufs d'Helminthes. Sous ce voile, nous trouvons le liquide acide généralement coloré mais débarrassé des corps bactériens, des détritits indéfinissables, des matières grasses et des sels solubles et ne contenant plus en suspension que les éléments parasitaires et les parties les plus lourdes des constituants d'origine végétale ou animale de la selle.

Avant de procéder à la séparation totale des éléments parasitaires, il importe de mettre en liberté la partie de ceux-ci présente dans le voile supérieur et qui a accédé à cette couche par suite des courants provoqués par le mouvement ascensionnel de l'éther ou de l'oxyde d'isopropyle. C'est en produisant une dislocation du voile par agitation en son sein même que nous arrivons à ce résultat, les éléments parasitaires se réunissant tous alors dans le liquide acide sous-jacent.

Au moyen d'un artifice simple, nous prélevons dans un tube à centrifuger un volume défini de liquide acide. Cette

partie aliquote est centrifugée afin de rassembler en un culot les éléments denses qu'elle contient et, par conséquent, les kystes de Protozoaires et les œufs d'Helminthes. Le liquide surnageant est ensuite décanté en totalité.

2° SEPARATION SELECTIVE DES ELEMENTS PARASITAIRES PAR DES MOYENS PHYSIQUES.

Les opérations précédentes étant effectuées, il ne reste alors dans le tube à centrifuger qu'un culot représentant une partie aliquote de la prise d'essai initiale de matières, dont il contient les éléments parasitaires et les constituants les plus denses; nous procédons à la séparation de ceux-là de la façon suivante. Le culot est délayé et mis en suspension dans une solution saline de densité 1,308 soit 34° Baumé à + 15° C. Le liquide remplit jusqu'à ras-bord le tube à centrifuger et nous disposons sur le ménisque convergent ainsi formé une lamelle de verre ou de mica sans qu'apparaisse de solution de continuité mise en évidence par la formation d'une bulle d'air.

Le tube ainsi fermé est centrifugé; il se produit alors par suite des différences de poids spécifiques une séparation totale des éléments parasitaires qui montent et viennent adhérer à la lamelle tandis que les débris d'origine alimentaire plus denses restent en suspension ou sédimentent en formant un nouveau culot.

La lamelle est alors retournée sur une lame et son examen microscopique permet le diagnostic des éléments parasitaires et leur numération facile puisqu'ils sont isolés du reste de la pâte fécale. Connaissant le volume de la partie aliquote qui contenait ces éléments parasitaires par rapport à la prise d'essai initiale, il est alors aisé de calculer le nombre d'éléments pathogènes présents dans une quantité prise comme unité de la selle examinée.

APPAREILS ET RÉACTIFS UTILISÉS

Pour réaliser techniquement la méthode dont nous venons d'exposer le principe directeur, nous avons été amené à composer des réactifs et à construire un appareillage simple, mais dont les caractéristiques sont indispensables à la bonne marche du mode opératoire. La description exacte de notre appareillage, la composition quantitative et qualitative des réactifs vont faire l'objet de ce paragraphe, permettant ainsi ultérieurement la définition aisée de notre technique opératoire.

Afin de faciliter son montage éventuel, l'appareillage employé est décrit selon son ordre d'utilisation par l'opérateur. Il en est de même pour les réactifs employés. Si notre matériel est uniquement construit en verre et en cuivre, c'est pour en faciliter le lavage au moyen de bases fortes, sans qu'il soit attaqué.

A. — APPAREILLAGE.

I. DISPOSITIF EMPLOYÉ POUR LE PRÉLÈVEMENT.

Le prélèvement étant fixé à 5 cm³, nous avons construit un appareil permettant la détermination exacte de ce volume pour des selles de consistance dure ou pâteuse, étant évident que pour des fèces liquides il suffira d'employer une éprouvette graduée.

L'appareil (dessin n° 1) se compose d'un cylindre de cuivre d'une hauteur de 24 mm. 9 et d'un diamètre intérieur de 16 mm., l'épaisseur de la feuille de cuivre utilisée étant 1 mm. Pour faciliter le remplissage de ce cylin-

dre, nous avons affilé ses bords à leurs parties supérieures et inférieures, afin que leur épaisseur de 0 mm. 10 les rende coupants. En un point situé au milieu d'une des hauteurs du cylindre, est ajustée une tige latérale en cuivre de 140 mm. de longueur facilitant la préhension de l'appareil.

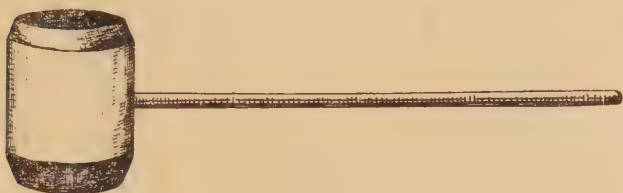


Fig. N° 1. — Cylindre ouvert à ses deux extrémités, servant au prélèvement et à la mesure de l'échantillon.

Le volume du cylindre calculé en tenant mathématiquement compte de ses dimensions est de

$$2,49 \times (0,8)^2 \times 3,14159 \text{ soit } 5 \text{ cm}^3 \text{ 006}$$

II. APPAREIL EMPLOYÉ POUR L'HOMOGÉNÉISATION DES MATIÈRES ET LEUR TRAITEMENT CHIMIQUE (dessin n° 2).

Il se compose d'un tamiseur distributeur relié à une allonge à homogénéisation dans laquelle tourne un agitateur mécanique.

Les caractéristiques de ces trois systèmes disposés autour d'un support central (photographie de la page 121) sont les suivantes :

1° *Tamiseur-Distributeur.*

Il est constitué par un entonnoir de verre Pyrex cylin-

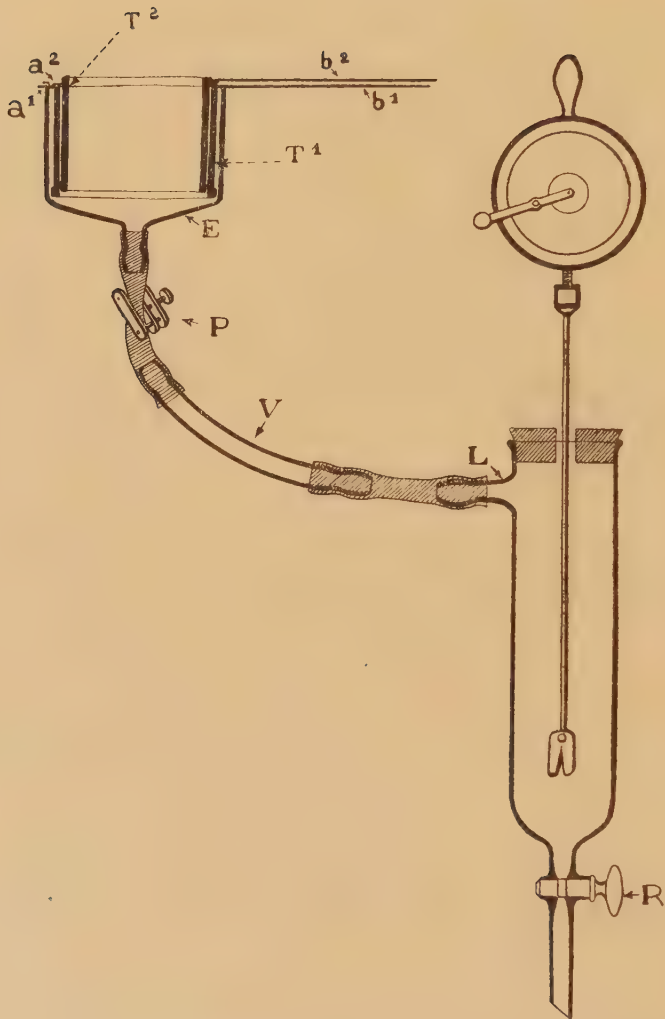


Fig. N° 2. — Schéma de l'appareil pour le tamisage, la dilution, l'acidification des matières et leur traitement par l'éther.

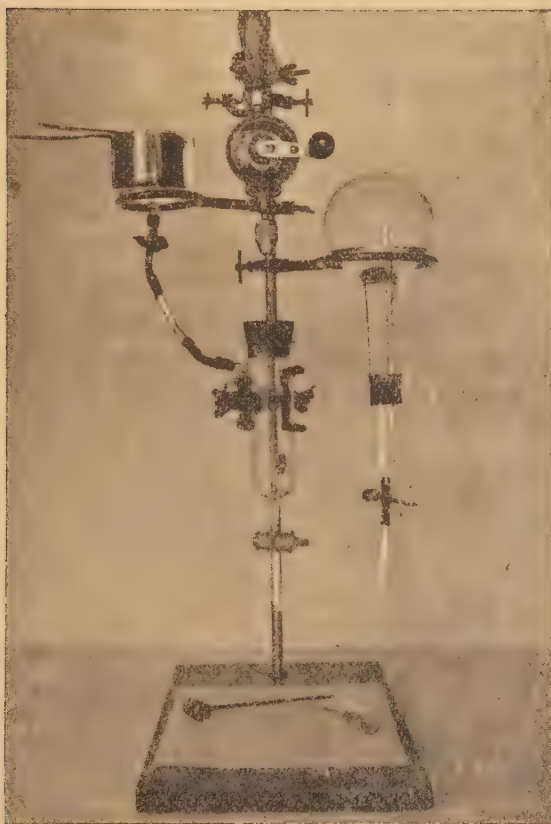


Fig. N° 3. — Photographie de l'appareil schématisé dans la fig. n° 2.

drique de 80 mm. de diamètre intérieur terminé par une tige de 7 mm. de diamètre intérieur et d'une longueur de 20 mm. Reposant sur les bords rodés de cet entonnoir, est disposé un système de deux tamis à mailles de bronze et dont l'armature est formée d'une feuille de cuivre de 1 mm. d'épaisseur. Le premier tamis T^1 à mailles de 0 mm. 5 est formé d'un cylindre de cuivre de 70 mm. de diamètre intérieur, et d'une hauteur de 50 mm. Il supporte le second tamis T^2 de 45 mm. de hauteur, d'un diamètre intérieur de 65 mm. et dont les mailles sont de 1 mm. Les toiles de bronze sont fixées à l'armature des tamis au moyen d'un anneau de cuivre soudé.

Le tamis T^1 repose sur l'entonnoir E par l'intermédiaire de deux tiges extérieures: l'une (a^1) très courte, de 15 mm. de longueur, l'autre (b^1) de 110 mm. de longueur servant en même temps de manche. Il en est de même du tamis T^2 placé sur T^1 au moyen de (a^2) et (b^2).

Sur l'olive de la tige terminale de l'entonnoir est fixé un tube de caoutchouc de 7 mm. de diamètre interne pouvant être fermé par serrage d'une pince de Mohr ou de tout autre système semblable : P.

Ce tube de caoutchouc d'une longueur de 60 mm. vient aboutir dans un plan inférieur à un tube de verre V courbé, de 7 mm. de diamètre intérieur, qui est raccordé au moyen d'un autre embout de caoutchouc à la tubulure latérale de l'allonge à homogénéisation.

2° Allonge à homogénéisation.

L'allonge à homogénéisation ouverte à son extrémité supérieure est en verre Pyrex; elle porte une tubulure latérale L et se termine par une partie effilée munie d'un robinet R.

Les caractéristiques de cette allonge sont les suivantes :

hauteur totale = 240 mm.

hauteur jusqu'au robinet = 180 mm.

hauteur de la partie effilée = 80 mm.

diamètre interne de la partie cylindrique = 43 mm.

diamètre interne du tube effilé = 7 mm.

voie du robinet = 3 mm.

Le volume utilisable de l'allonge, c'est-à-dire de la base de la tubulure latérale jusqu'au robinet est de 165 cm³.

La tubulure latérale de 7 mm. de diamètre intérieur est disposée dans le plan du robinet à 15 mm. de distance de l'extrémité bordée de l'allonge. Grâce à ce bordage, on peut fermer l'allonge au moyen d'un bouchon de caoutchouc percé en son centre d'un trou de 6 mm. de diamètre.

3° *Agitateur mécanique.*

Le système est composé d'une hélice en cuivre à une pale fixée à l'extrémité d'une tige mue par une drille appelée vulgairement « chignole »; celle-ci est maintenue par le support central de telle façon que la tige traverse le bouchon fermant l'allonge à homogénéisation et que l'hélice soit dans l'axe vertical de l'allonge.

L'hélice est formée par une feuille de cuivre rectangulaire de 16 mm. de longueur, de 10 mm. de largeur et d'une épaisseur de 1 mm. Elle est coupée suivant les 3/4 de la longueur d'une ligne réunissant les deux milieux des plus petits côtés, de telle façon que les deux parties ainsi séparées se situent dans deux plans formant entre eux un angle de 25°. Cette hélice est ajustée au moyen d'un boulon et d'un écrou sur une tige de cuivre, de manière qu'elle puisse se déplacer dans le plan de son axe.

La tige dont la longueur est de 250 mm. et le diamètre de 3 mm. est très légèrement coudée une ou deux fois de telle façon qu'au mouvement propre à l'hélice dû à la force centrifuge, s'ajoute un déplacement elliptoidal de son axe.

La drille est placée au-dessus de l'allonge et l'axe de l'hélice est fixé dans la vis de serrage qui sert normalement à maintenir une mèche à forer.

Le système étant ainsi disposé, l'hélice doit se placer à 10 cm. du bord supérieur de l'allonge, condition qui devra être rigoureusement observée.

III. TUBES A CENTRIFUGER.

Nous employons des tubes à centrifuger coniques d'un volume de 15 cm³ et dont les caractéristiques sont les suivantes :

hauteur.	82 mm.
plus grand diamètre externe	20 mm.

Ces tubes sont gradués en centimètres cubes ou plus simplement jaugés à 10 cm³. Leur forme conique permet la formation de culots de centrifugation à grande adhérence, ce qui facilite la décantation du liquide surnageant.

Afin d'assurer une fermeture parfaite aux tubes employés, le bord de ceux-ci est soigneusement rodé par frottement sur divers abrasifs et finalement au moyen de papier émeri.

IV. PISSETTE.

Pour remplir aisément les tubes à centrifuger sans produire de bulles d'air lors de la formation du ménisque convexe, nous utilisons la pissette employée en bactériologie pour la répartition des milieux de culture liquides, en la modifiant légèrement.

L'effilure terminale du tube par lequel s'effectue la sortie du liquide est coudée dans un plan perpendiculaire à l'axe de la pissette, ce qui permet un jet horizontal.

La pissette repose sur une attache circulaire en acier disposée latéralement sur le support central de l'appareil principal.

V. LAMELLES.

Les tubes à centrifuger ayant un diamètre externe de 20 mm., nous employons des lamelles rondes d'un diamètre légèrement supérieur, soit de 22 mm. Par suite du manque de verrerie en général, et devant la quasi-impossibilité de trouver actuellement des lamelles rondes, nous avons tenté de pourvoir à leur remplacement en utilisant des feuilles de mica rendues par clivages successifs suffisamment minces et donc suffisamment transparentes. Les micas « muscovites » sans magnésium doivent être employés à l'exclusion des micas « biotites » riches en magnésium et en fer, dont la couleur foncée nuit à l'examen microscopique.

Les lamelles de mica obtenues de la sorte présentent une adhérence aux œufs d'Helminthes identique à celle du verre, mais leur inconvénient réside dans leur faible dureté qui oscille entre les chiffres 2 et 3 de l'échelle de Mohs.

B. — REACTIFS.

Nous rappelons que l'ordre de présentation de ces réactifs est leur ordre d'utilisation dans la technique de notre méthode.

1° LIQUIDE DE DILUTION.

Après avoir essayé des solutions aqueuses de plusieurs

acides à différents titres, nous nous sommes finalement arrêté à la composition du réactif suivant :

acide trichloracétique à 20 %	1 cm ³
solution officinale de formaldéhyde à 35 %	10 cm ³
eau distillée Q. S. pour	100 cm ³

Le pH de cette solution mesuré au comparateur d'Hel-lige est de 2,3.

Si nous avons composé notre liquide de dilution de la sorte, c'est pour permettre d'effectuer, en une seule opération, la dilution et l'acidification des matières, sans que les éléments parasitaires soient altérés dans leur membrane externe. Nous avons préféré l'acide trichloracétique à tous les autres acides par suite du grand pouvoir déféquant qui lui est particulier.

2° ETHER, OXYDE D'ISOPROPYLE. .

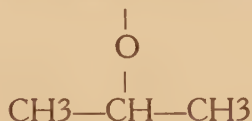
L'éther que nous avons employé est l'éther rectifié du commerce à 65° Baumé, de densité 0,724 à + 15° C., qui renferme un peu d'eau et 3 % environ d'alcool. L'utilisation d'éthers moins purs — à 62° Baumé de densité 0,735 à + 15° C., ou à 56° Baumé, de densité 0,758 à + 15° C — ne nous a nullement gêné dans les enrichissements de matières fécales.

Mais la température d'ébullition de l'éther étant de + 36°5 C., sous la pression de 760 mm., nous a causé de nombreuses difficultés, lors de l'exécution des techniques d'enrichissement, pendant les périodes chaudes de l'année.

C'est pour remédier à ces inconvénients que nous avons cherché un corps capable de remplacer l'éther, qui en possède les mêmes propriétés, tant physiques que chimiques, mais dont le point d'ébullition lui soit nettement supérieur.

Le corps qui nous a semblé le mieux répondre à ces conditions, après de nombreux essais, est un homologue supé-

rieur de l'éther : l'oxyde d'isopropyle $\text{CH}_3\text{—CH—CH}_3$



Nous avons résumé en un tableau quelques constantes de l'éther et de l'oxyde d'isopropyle, afin que leur comparaison en soit facilitée :

	Ether	Oxyde d'isopropyle
	—	—
Point d'ébullition sous 760 mm...	36°5	67°5
Densité à + 20° C. par rapport		
à l'eau à + 20° C.....	0,724	0,724
Tension de vapeur à + 20°	158 mm.	442 mm.

3° LIQUIDE DE FLOTTAGE.

Ayant essayé différentes concentrations de plusieurs électrolytes — chlorure de sodium, sulfate de zinc, acétate de sodium, chlorure de calcium, silicate de sodium, nitrate de sodium... —, et en considérant les critiques que nous avons formulées sur l'utilisation des corps mis en solution comme liquides de flottage — liquides organiques : glycérine, sirop de sucre... —, nous nous sommes finalement arrêté à une solution de bromure de sodium de densité 1,308, ce qui correspond à 34° Baumé à + 15° C.

Cette solution est obtenue par dissolution à froid de 69 gr. 20 de bromure de sodium cristallisé dans 100 cm³ d'eau distillée; le liquide obtenu est ensuite filtré et conservé dans des flacons bouchant à l'émeri.

Si nous avons préféré cette solution à celles d'autres corps, c'est parce qu'elle ne présente aucune incompatibilité avec les résidus d'origine alimentaire, comme c'est le cas par exemple, avec les dilutions de chlorure de calcium et les tanins ou les albuminoïdes, et aussi parce qu'elle ne

contient, relativement à sa haute densité, qu'un poids minime de sel dissous.

La lecture et la numération de la préparation finale s'effectuant dans le liquide de flottage, il importe que la saturation de la solution par évaporation ne se produise que lentement pour que l'observateur ne soit pas gêné par la formation de cristaux, comme c'est le cas avec les solutions saturées de chlorure de sodium. De plus, si la concentration en sel augmentait jusqu'à la cristallisation totale, par suite de l'évaporation accélérée par le chauffage de la lampe du microscope, il se produirait entre la lame et la lamelle un dessèchement suffisant pour faire éclater les éléments parasitaires. Avec la solution de bromure de sodium, telle qu'elle a été définie précédemment, ces inconvénients ne sont pas à craindre et les microphotographies que nous présentons (pages 136, 137, 138), en montrant différents éléments parasitaires isolés par notre méthode, en font foi.

Deux autres propriétés intéressantes de cette solution de bromure de sodium résident dans sa neutralité presque théorique : pH de 6,8 mesuré au comparateur d'Hellige et sa faible viscosité : 0,0154 poise mesurée au viscosimètre de BAUME à $+ 19^{\circ}$ C.. En effet, un traitement acide prolongé, comme c'est le cas par exemple dans la méthode de CARLES et BARTHÉLEMY, fait éclater les œufs à enveloppe mince et il n'est besoin pour s'en rendre compte que de consulter la planche I, figure 2, de la publication même de BARTHÉLEMY (68). Quant à la viscosité, nous avons vu précédemment que ce facteur entrainait en jeu dans la loi de STOKES régissant la mécanique des corps en suspension et que, par conséquent, il ne pouvait être question de rassembler les éléments parasitaires par centrifugation sans affecter au liquide qui les contient en suspension la plus faible viscosité possible : c'est ce que nous avons tenté de réaliser avec notre solution de bromure de sodium dont la viscosité est très proche de celle de l'eau.

TECHNIQUE

Les selles étant apportées au laboratoire dans un flacon préalablement stérilisé, il convient d'opérer de la façon suivante :

PRÉLÈVEMENT. — Remplir de matières le cylindre jaugé à 5 cm³ en prélevant en 4 ou 5 endroits de la selle à examiner des échantillons correspondants aux diverses parties de celle-ci. Les points de prélèvements devront se situer, pour une selle de consistance dure ou pâteuse, d'une part, au milieu et à la fin de celle-ci, d'autre part, sur sa couche superficielle généralement vernissée, ainsi que dans sa partie interne.

Le cylindre rempli, on égalise ses bases au moyen d'une spatule ou d'une lame de verre amenée perpendiculairement.

Si les selles sont diarrhéiques, de consistance liquide, il suffit d'en mesurer 5 cm³ au moyen d'une éprouvette ou d'un tube jaugé.

Ce mode de prélèvement multiple, préliminaire à tout enrichissement, est d'une importance considérable pour le diagnostic final. En effet, la distribution des œufs d'*Helminthes* dans la selle résulte de la position de l'élément parasitaire adulte dans les diverses parties de l'intestin et de son habitat propre; aussi faut-il, pour augmenter les chances de rencontrer ces œufs, faire un nombre suffisant de prélèvements. C'est ainsi que la femelle migratrice de l'*Oxyure* vermiculaire éjectant ses œufs à la marge de l'anus de l'hôte, nous les retrouvons sur la partie superficielle du début de la selle, alors que les œufs de *Tricho-*

céphale pondus par l'adulte implanté généralement dans la couche épithéliale du cæcum se trouvent dans la partie interne des matières.

TAMISAGE, DILUTION, ACTION DU RÉACTIF ACIDE. — Les différentes parties de l'appareil étant fixées et réunies entre elles autour d'un support métallique, comme l'indique la photographie de la page 121, il importe, tout d'abord, de régler la position de la vis de serrage P commandant le débit de l'entonnoir E de telle façon qu'un volume de 45 cm³ y étant versé, le niveau du liquide se trouve à 4 ou 5 millimètres au-dessus des mailles du tamis supérieur T².

Ce réglage étant effectué, le cylindre convenablement rempli de matières est vidé sur le tamis T² au moyen d'un agitateur en verre dont une extrémité est aplatie en forme de spatule circulaire.

La vis de serrage P étant bloquée, laver le cylindre posé sur le système tamiseur avec 45 cm³ du réactif trichloracéto-formolé; enlever le cylindre et tamiser les matières à travers le tamis T² à mailles de 1 mm., en s'aidant de l'agitateur décrit précédemment. Cette opération est grandement facilitée par la présence du réactif au-dessus des mailles du tamis, ce qui montre l'utilité du réglage préalable de la vis de serrage P.

Retirer le tamis T² qui peut contenir des débris importants d'origine alimentaire ou des Helminthes à l'état adulte dont la détermination est effectuée séparément.

Tamiser à nouveau au-dessus du tamis T¹, à mailles de 0 mm. 50, les conditions requises pour cette opération étant à fortiori remplies, puisque ce tamis se trouve au-dessous de T².

Les matières ayant successivement passé à travers les deux tamis, et le robinet R de l'allonge étant fermé, ouvrir

la vis de serrage P qui permet l'écoulement du liquide; nous avons choisi des tubes de verre et de caoutchouc d'un diamètre suffisant pour qu'un blocage ne puisse s'y effectuer et, dans le cas improbable de celui-ci, le tube de verre V permettrait de situer le lieu d'engorgement.

ACTION DE L'ÉTHER, HOMOGÉNÉISATION. — La vis P étant fermée à nouveau, déposer le tamis T² sur T¹ et rincer le système avec 25 cm³ d'éther ou d'oxyde d'isopropyle. Ouvrir la vis P libérant le solvant vers l'allonge à homogénéisation. Le système tamiseur est ainsi lavé, les œufs qui auraient pu adhérer soit au verre, soit aux mailles des tamis, sont entraînés par le mouvement du liquide et regagnent la dilution acide de matières.

Faire tourner rapidement l'agitateur mécanique de 30 tours environ, ce qui produit une mise en suspension totale de l'éther ou de l'oxyde d'isopropyle dans la dilution acide de matières. Laisser s'effectuer la séparation des diverses couches du mélange jusqu'à obtention d'un voile épais situé au-dessus du liquide acide et au centre duquel doit se trouver l'hélice de la drille, si les caractéristiques de l'appareil énoncées précédemment ont été observées. Au bout de 2 minutes, la séparation étant complète, briser le disque formé au moyen de 5 à 6 tours de l'agitateur, ce qui a pour effet de libérer les éléments parasitaires légers qui auraient pu s'y fixer, entraînés par le mouvement ascensionnel du solvant.

Décanter *immédiatement*, au moyen du robinet R, dans les tubes à centrifuger gradués, 10 cm³ de la dilution acide et répéter cette opération pour un second tube dans les mêmes conditions. Il ne reste alors dans l'allonge, qu'une partie de la suspension acide et le liquide éthéré.

Le robinet R est muni d'une voie d'écoulement d'un diamètre suffisant pour qu'un blocage de l'appareil ne se produise pas à son niveau.

PREMIÈRE CENTRIFUGATION. — Centrifuger les deux tubes à 1.700 tours-minute environ, pendant une minute; il se forme un culot particulièrement adhérent au tube. Le liquide surnageant est soigneusement décanté et, comme la séparation du solvant léger a eu lieu antérieurement dans l'allonge, on n'observe plus, comme dans les autres méthodes chimiques, la formation d'un disque essentiellement composé de corps bactériens, dont le nettoyage s'avérerait délicat.

MISE EN SUSPENSION DANS LE LIQUIDE DENSE. — Le culot de centrifugation d'un des tubes est mis en suspension dans 1 ou 2 cm³ du liquide de flottage, en s'aidant d'un agitateur effilé fermé. Disposer le tube à centrifuger dans son porte-tube de telle façon que l'orifice du tube soit à 1 cm. environ au-dessus de la pièce de fonte.

Nettoyer l'agitateur au-dessus du tube avec quelques centimètres cubes de la solution de bromure de sodium contenue dans la pissette décrite précédemment et compléter jusqu'à formation d'un ménisque convexe, sans mouiller les bords du tube, ni provoquer de bulles d'air à la surface du liquide. Pour cette opération, le jet du liquide devra être modéré et dirigé sur la paroi interne du tube, le ménisque se formant par addition finale de quelques gouttes de la solution.

Saisir entre le pouce et l'index une lamelle ronde de 22 mm. de diamètre et l'amener *latéralement* contre l'orifice du tube de telle façon qu'elle se place dans le plan défini par l'ouverture de celui-ci. Pousser la lamelle afin qu'elle recouvre le tube à centrifuger, sans produire de bulles d'air et sans faire écouler de liquide. Par suite du rodage effectué sur les bords du tube, la fermeture obtenue de la sorte est absolument hermétique.

Disposer le porte-tube dans la centrifugeuse. Effectuer

pour le second tube à centrifuger cette série d'opérations ainsi que les suivantes.

DEUXIÈME CENTRIFUGATION. — Centrifuger 45 secondes à la même vitesse que précédemment, soit à 1.700 tours-minute environ. Retirer le porte-tube et retourner la lamelle sur une lame sans la frotter contre les parois du tube, ce qui ferait tomber les éléments recherchés dans le liquide de flottage. Une goutte de la solution bromurée est ainsi entraînée avec la lamelle et c'est dans ce liquide que s'effectue l'examen microscopique.

NUMÉRATION DES ÉLÉMENTS PARASITAIRES. CALCUL DES RÉSULTATS. — La lame portant la lamelle de centrifugation est disposée sur la platine mobile d'un microscope dont l'oculaire porte un diaphragme carré.

On effectue alors un examen méthodique de la préparation et la numération des éléments pathogènes rencontrés est grandement facilitée par la clarté des champs examinés, comme le montrent les microphotographies des pages 136, 137, 138. C'est pourquoi l'emploi de réseaux identiques à ceux proposés par F. FULLEBORN (91) ne se montre pas indispensable avec notre méthode qui ne nécessite qu'un oculaire à diaphragme carré.

La numération étant effectuée successivement sur chacune des deux lamelles fermant les tubes de centrifugation, on en déduit le *chiffre moyen qui donne immédiatement le nombre d'éléments parasitaires par centimètre cube de matières fécales.*

En effet, le prélèvement de 5 cm³ étant dilué dans 45 cm³ du réactif trichloracéto-formolé, on y ajoute 25 cm³ d'éther et on effectue l'homogénéisation. La quantité de liquide acide ultérieurement décantée étant de 10 cm³ par tube à centrifuger représente 1 cm³ de matières; la numération des éléments figurés s'effectuant à partir du

culot de centrifugation de ces 10 cm³ correspond donc bien à 1 cm³ de matières. Toutes les opérations étant effectuées sur deux tubes, on peut donc en déduire le chiffre moyen.

Les préparations obtenues au moyen de notre technique peuvent être lutées avec le lut de RONDEAU DU NOYER (94) et conservées de la sorte.

LAVAGE DE L'APPAREIL. — Lorsque l'examen parasitaire est effectué, il convient de nettoyer l'ensemble de l'appareil en versant par l'entonnoir E de la soude diluée, qui s'écoule par la tubulure latérale dans l'allonge à homogénéisation. Les tubes à centrifuger ainsi que le cylindre de cuivre servant au prélèvement seront, de même, immergés dans la soude. Après quelques minutes de contact, tout l'appareillage est lavé au moyen d'un courant d'eau, de la même manière que précédemment, ce qui permet de ne pas démonter le système.

Quant aux tamis, après immersion dans la soude, ils seront retournés et brossés soigneusement sous le jet d'un robinet d'eau.

ELEMENTS ORGANISES FLOTTABLES DU REGNE VEGETAL

Au cours des nombreux examens coprologiques que nous avons pratiqués avec notre méthode, nous avons souvent observé sur les lamelles de centrifugation, des éléments figurés dont l'étude relève soit de la botanique, soit de la mycologie. Ce sont en effet, soit des spores de champignons, soit des pollens de plantes résultant de l'alimentation, soit encore des levures pathogènes ou plus simplement saprophytes de l'homme.

La diagnose des pollens et des spores étudiée par A. GRAND (95) et LANGERON-RONDEAU DU NOYER (96) est généralement facile, même après l'action des sucs digestifs. Elle peut servir utilement en médecine légale et comme moyen de détection d'intoxications inexplicables par leurs étiologies.

Mais, si la détermination des pollens et des spores peut être considérée cliniquement comme d'une importance secondaire, il n'en va pas de même de la présence de certains Blastomycètes et particulièrement des Clostridies — *Bacillus amylobacter*. La mise en évidence par notre méthode de ces Clostridies permet, en effet, d'affirmer une exagération du transit intestinal, puisque ces Blastomycètes se trouvent généralement dans la partie cœcale de l'intestin. La microphotographie de la page 136, fig. 4 montre un certain nombre de ces Clostridies à côté de kystes de *Giardia intestinalis*.

Aussi, si l'on peut négliger dans un compte rendu d'examen coprologique, les spores et les pollens, il est indispen-

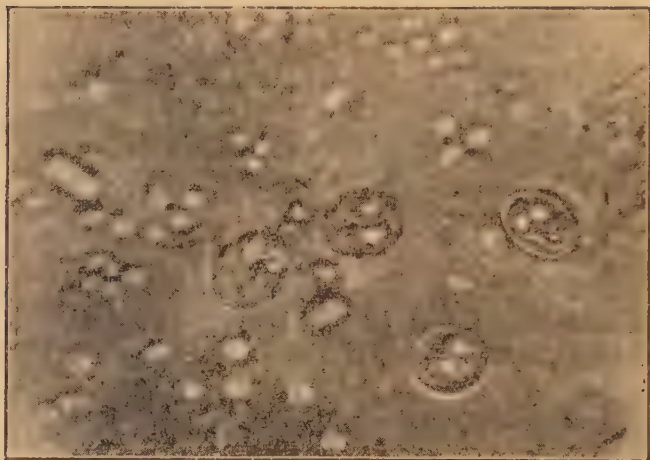


Fig. N° 4. — Kystes de *Giarda intestinalis* et *Clostridium*.
(Grossissement $\times 735$)



Fig. N° 5. — A gauche : *Diplodinium caudatum* (Infusoire). — A droite : oocyste d'*Eimeria stiedai* (Coccidie).
(Grossissement $\times 600$.)

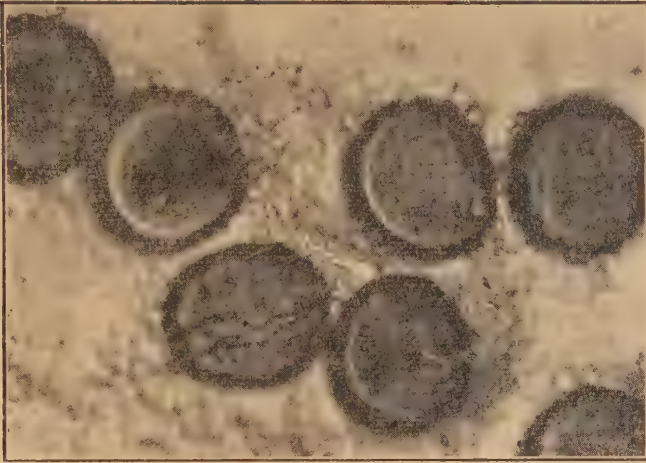


Fig. N° 6. — Embryophores de *Tænia saginata*.
(Grossissement $\times 600$.)



Fig. N° 7. — Œufs de *Giganthoryncus hirudinaceus*.
(Grossissement $\times 400$.)

(Cette microphotographie montre les divisions du micromètre oculaire permettant la mensuration des éléments examinés.)

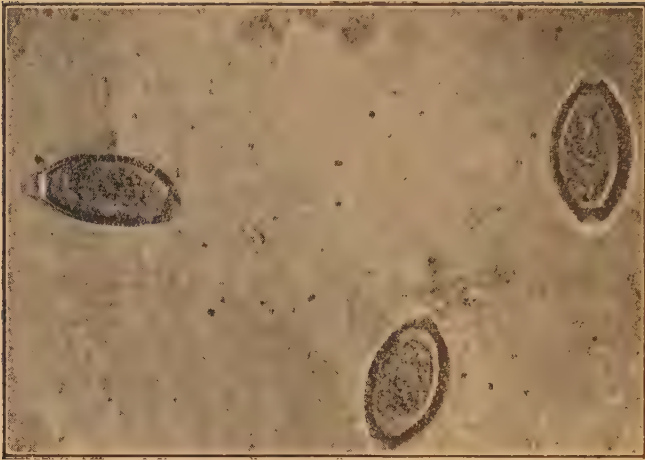


Fig. N° 8. — Œufs de *Trichuris trichiura*.
(Grossissement $\times 400$.)



Fig. N° 9. — Œufs d'*Enterobius vermicularis*.
(Grossissement $\times 600$.)

sable de noter la présence des Clostridies et leur importance relative.

Enfin, nous avons fréquemment observé dans nos préparations une espèce d'Hyphomycète Thallosporé : *Blastocystis hominis* à ses différentes formes. Bien que le parasitisme de cet Hyphomycète soit encore très contesté — E. BRUMPT (97) —, sa présence doit toutefois être mentionnée dans un compte rendu d'examen coprologique, au même titre que les Clostridies, même si l'on envisage que c'est un hôte normal du gros intestin.

VALEUR ET SENSIBILITÉ DE LA MÉTHODE

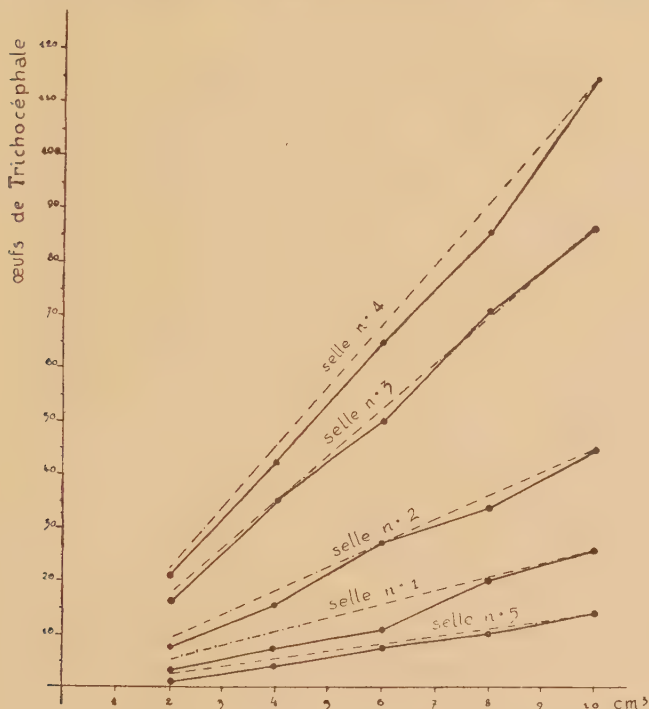
Notre méthode permettant la numération des éléments parasitaires contenus dans un volume déterminé de la dilution acide après homogénéisation, nous avons cherché à définir quelle était la limite au delà de laquelle elle s'avérait impuissante à la détection des éléments figurés pathogènes. Ne pouvant connaître a priori la quantité d'éléments parasitaires contenus dans divers prélèvements de la selle à examiner, et ne pouvant modifier avant l'homogénéisation le volume et la nature de ces prélèvements, sans nous placer dans des conditions différentes de celles de notre technique, nous avons utilisé le processus suivant : prenant comme exemple d'éléments figurés des œufs de *Trichocéphale*, nous avons effectué une numération initiale de ceux-ci dans 10 cm³ de la suspension acide provenant de l'allonge à homogénéisation ; puis nous avons effectué les mêmes numérations successivement sur 8, 6, 4 et 2 centimètres cubes de la même suspension. Nous avons répété ces numérations sur 5 selles différentes contenant toutes des œufs de *Trichocéphale* et les résultats ont été les suivants :

Nombre de centimètres cubes prélevés	10	8	6	4	2
selle n° 1	26	20	11	7	3
Nombre d'œufs de <i>Trichocéphale</i> trouvés	selle n° 2 45	34	27	15	7
selle n° 3	87	71	50	35	16
selle n° 4	115	86	65	43	21
selle n° 5	14	10	8	4	1

Si l'on compare le nombre d'œufs de *Trichocéphale* trouvés avec les volumes de suspension utilisés, nous obtenons les courbes suivantes :

— en abscisse, les nombres de centimètres cubes de liquide acide prélevé;

— en ordonnée, les nombres d'œufs de Trichocéphale.



Nous avons figuré, d'autre part, les points représentant les nombres théoriques d'œufs de Trichocéphale qui, directement proportionnels aux volumes prélevés, se placent sur une droite passant par l'origine (— — —).

Par la simple lecture de ces courbes, on voit que les nombres d'œufs de Trichocéphale trouvés correspondent de *très près* aux chiffres théoriques et même, en certains points, se confondent avec eux.

Il ne semble donc pas que le volume de 10 cm³ prélevé à l'allonge à homogénéisation soit un minimum, mais que,

bien au contraire, il serait passible d'une diminution sensible, allant même jusqu'à 2 cm^3 . Si nous avons conservé ce volume de 10 cm^3 , c'est parce qu'il facilitait le calcul du résultat, permettant ainsi d'appliquer directement à 1 cm^3 de matières le chiffre trouvé par la numération, sans aucune opération ultérieure, ni aucun coefficient.

Malheureusement, ces résultats laissent inconnue la valeur de la première partie de notre technique, qui comporte les tamisages et la dilution en milieu acide; comme ce sont là des opérations destinées à une première séparation des éléments figurés recherchés, nous ne pouvons que nous en rapporter aux microphotographies ci-jointes; elles montrent suffisamment, à notre avis, jusqu'à quel point nous pouvons obtenir, par notre méthode, la présentation sélective des éléments parasitaires différenciés de tous les autres constituants des matières et ayant conservé, après l'action des réactifs, leur membrane externe en parfait état.

Enfin, nous avons tenté de comparer les résultats quantitatifs obtenus par notre méthode avec ceux donnés par celle de W. TELEMANN modifiée par Damaso de RIVAS, qui s'en rapproche le plus : sur 50 selles examinées parallèlement avec les deux méthodes, et dont aucune ne présentait d'œufs de Trichocéphale avec la technique TELEMANN-RIVAS, 15 ont montré 1 œuf, 8, 2 œufs, et 6, 5 œufs avec notre méthode. Nous augmentons donc, ainsi, de 58 % la détermination positive, alors qu'en aucun cas, la méthode de TELEMANN-RIVAS ne nous a permis de signaler une helminthiase que la nôtre pouvait définir par un chiffre supérieur.

Quelle que soit la valeur d'enrichissement de notre méthode, il reste entendu que si l'on n'observe pas d'éléments parasitaires en effectuant notre technique sur une seule selle, cela ne permet pas d'affirmer une non parasitose.

En effet, les formes végétatives ou les kystes de Protozoaires, comme les œufs d'Helminthes disparaissent des

selles pendant certaines périodes de leur cycle évolutif, périodes que R. DESCHIENS (98) a appelées « *phases négatives d'émission* ». Pendant ces périodes, dont la durée maximum est de 7 jours avec *Giardia intestinalis*, tout examen coprologique considéré du point de vue parasitologique se révèle inutile.

C'est pourquoi on ne peut prétendre affirmer une non-parasitose intestinale après un examen négatif d'une seule selle, quelle que soit la technique d'enrichissement utilisée. Au contraire, si l'on effectue, chez un même malade, des examens en série sur des selles provenant d'un nombre de jours supérieur à la « *phase négative* » — minimum de 8 jours — et que les résultats soient tous négatifs, on peut alors, à coup sûr, affirmer une non-parasitose. Il existe cependant deux restrictions à cette règle dans les cas peu fréquents d'adultes mâles d'Helminthes ou de femelles infécondes dont le diagnostic par la coprologie microscopique est impossible, mais ce sont là de très rares éventualités.

Aux Etats-Unis d'Amérique, où l'examen parasitologique des selles est fréquemment effectué pour le dépistage de l'Ankylostome en particulier, on considère qu'un individu n'est pas parasité, lorsque trois examens microscopiques de ses selles effectués à trois jours d'intervalle chacun ne révèlent pas d'éléments parasitaires. — M. C. HALL (99), R.-B. HILL (100), Ch.-W. STILES (101). Cela implique l'acceptation d'une durée maximum de 5 jours pour la « *phase négative* », puisqu'entre le premier et le troisième examen, il ne s'est écoulé que 6 jours.

Il serait souhaitable que les examens parasitologiques des fèces pratiqués dans nos laboratoires s'effectuent au moins dans ces conditions, qui sont pourtant celles de détermination d'index parasitaires, donc d'examens particulièrement nombreux, au lieu de se cantonner trop souvent dans la recherche des éléments parasitaires sur une seule selle.

APPLICATION DE LA MÉTHODE A LA DÉTERMINATION DE L'INDEX PARASITAIRE DE LA RÉGION PARISIENNE

Après les travaux de L. BALLAND (102) en 1910, et plus près de nous de C. DESPORTES (103) en 1938, différentes statistiques ont été publiées par ces auteurs sur la fréquence de certains Helminthes dans la région parisienne; enfin, dans son magistral « Précis de Parasitologie » (97) le Professeur E. BRUMPT indique pour la grande majorité des espèces qu'il étudie, quelle est leur fréquence relative, et particulièrement à Paris.

Nous avons tenté, pour notre part, de déterminer, à l'aide de notre méthode, quelle était la valeur de l'index parasitaire actuel de la région parisienne, c'est-à-dire la fréquence moyenne des différents parasites rencontrés chez un nombre assez grand d'individus, après les événements qui marquèrent le milieu de l'année 1940 et surtout après l'exode d'une grande partie de la population de la capitale.

Nous nous sommes adressé à 1.000 personnes adultes des deux sexes venues consulter les différents services d'hôpitaux parisiens, sans particulièrement retenir les malades des services de gastro-entérologie. Les résultats qui vont être résumés ci-après, découlent donc d'une enquête établie sur un plan préalable et qui, sans solution de continuité, a duré le temps indispensable pour la mener à bonne fin. Le groupe qui en est l'objet est parfaitement homogène du point de vue économique et social, les conditions d'habitation et le régime alimentaire étant pratiquement les mêmes pour les membres qui le composent.

Il faut avoir présent à l'esprit que la grande majorité des infestations dont il est fait état sont des *infestations recherchées* et non pas *diagnostiquées* par suite de troubles de santé éprouvés par l'infesté.

Les sujets dont les selles ont été examinées sont au nombre de 1.000, comprenant 634 hommes et 366 femmes, parmi lesquels 426 hommes (67,15 %) et 256 femmes (69,94 %) furent reconnus infestés. Les infestés se répartissent eux-mêmes en 651 mono-infestés, c'est-à-dire n'hébergeant qu'une seule espèce de parasite et 31 poly-infestés.

En tenant compte de la poly- et de la mono-infestation, on peut résumer les résultats obtenus de la façon suivante :

	Infestation individuelle %
<i>Entamæba dysenteriae</i>	1,20 %
<i>Giardia intestinalis</i>	4,40 %
<i>Tænia saginata</i>	2,60 %
<i>Ascaris lumbricoïdes</i>	4,50 %
<i>Enterobius vermicularis</i>	4,30 %
<i>Trichuris trichiura</i>	54,30 %

Les tableaux ci-joints, mieux que toute description, permettront d'apprécier en détail les quelques résultats résumés ci-dessus :

RECENSEMENT

AGES	Examinés		Exempts		Infestés	
	M	F	M	F	M	F
20 à 30 ans	159	66	74	20	85	46
31 à 40 ans	213	175	78	46	135	129
41 à 50 ans	187	93	38	35	149	58
51 à .. ans	75	32	18	9	57	23
Totaux	634	366	208	110	426	256

Sujets examinés: 1.000, soit 634 hommes et 366 femmes.

Sujets exempts: 318, soit 208 hommes et 110 femmes.

Sujets infestés: 682, soit 426 hommes et 256 femmes, c'est-à-dire :

67, 19 % des hommes
 et 69, 94 % des femmes
 ou 68, 20 % si l'on ne considère pas les sexes.

INFESTATION

AGES	Mono-infestés		Poly-infestés	
	M	F	M	F
20 à 30 ans	83	46	2	—
31 à 40 ans	121	127	14	2
41 à 50 ans	138	57	11	1
51 à . . ans	56	23	1	—
Totaux	398	253	28	3

Sur les 682 infestés se répartissant en 426 hommes et 256 femmes, nous avons rencontré :

— 398 hommes *mono-infestés*, c'est-à-dire 62,77 % des hommes recensés et 93,42 % des hommes infestés;

— 253 femmes *mono-infestées*, c'est-à-dire 69,12 % des femmes recensées et 98,82 % des femmes infestées.

D'autre part, il y avait: 28 hommes *poly-infestés*, soit 4,41 % des hommes recensés et 6,57 % des hommes infestés

Pour les femmes, 3 ont été reconnues *poly-infestées*, soit 0,81 % des femmes recensées et 1,17 % des femmes infestées.

MONO-INFESTATION

Les parasites rencontrés sont au nombre de six: *Entamæba dysenteriae* (E. d.), *Giardia intestinalis* (G. i.), *Tænia saginata* (T. s.), *Ascaris lumbricoides* (A. l.), *Enterobius vermicularis* (E. v.) et *Trichuris trichiura* (T. t.).

Chez les hommes, la mono-infestation se répartit de la sorte:

Âges	Nombre de sujets mono-infestés						
		E.d.	G.i.	T.s.	A.l.	E.v.	T.t.
20 à 30 ans ..	83	1	4	1	3	4	70
31 à 40 ans ..	121	3	7	7	7	1	96
41 à 50 ans ..	138	4	7	8	8	3	108
51 à .. ans ..	56	—	6	3	3	2	42
Totaux ..	398	8	24	19	21	10	316
En %		1,26	3,78	2,99	3,17	1,57	49,84

Chez les femmes:

Âges	Nombre de sujets mono-infestés						
		E.d.	G.i.	T.s.	A.l.	E.v.	T.t.
20 à 30 ans .	46	—	2	—	1	6	37
31 à 40 ans .	127	1	7	1	3	15	100
41 à 50 ans .	57	—	3	—	1	8	45
51 à .. ans .	23	—	1	1	—	2	19
Totaux ..	253	1	13	2	5	31	201
En %		0,27	3,55	0,54	1,36	8,46	54,91

POLY-INFESTATION

Chez 28 hommes, nous avons rencontré quatre groupes de deux parasites formés, soit d'*Entamœba dysenteriae-Trichuris trichiura*, soit de *Giardia intestinalis-Trichuris trichiura*, soit de *Tœnia saginata-Ascaris lumbricoïdes*, soit enfin d'*Ascaris lumbricoïdes-Trichuris trichiura*.

Ages	Nombre de sujets poly-infestés	E.d.- T.t.	G.i.- T.t.	T.s.- A.l.	A.l.- T.t.
20 à 30 ans	2	—	1	1	—
31 à 40 ans	14	2	1	3	8
41 à 50 ans	11	1	4	1	5
51 à .. ans	1	—	—	—	1
Totaux	28	3	6	5	14
En %		0,47	0,94	0,78	2,20

Chez 3 femmes, nous avons rencontré l'association parasitaire *Enterobius vermicularis-Trichuris trichiura* ou bien *Giardia intestinalis-Trichuris trichiura*.

AGES	Nombre de sujets poly-infestés	E.v.-T.t.	G.i.-T.t.
20 à 30 ans	—	—	—
31 à 40 ans	2	—	2
41 à 50 ans	1	1	—
51 à .. ans	—	—	—
Totaux	3	1	2
En %		0,27	0,54

INFESTATION INDIVIDUELLE

En tenant compte de la mono- et de la poly-infestation, on peut résumer les résultats obtenus de la façon suivante :

	Hommes	Femmes
<i>Entamæba dysenteriae</i>	1,73 %	0,47 %
<i>Giardia intestinalis</i>	4,73 %	3,82 %
<i>Tænia saginata</i>	3,78 %	0,54 %
<i>Ascaris lumbricoïdes</i>	6,30 %	1,36 %
<i>Enterobius vermicularis</i>	1,57 %	9,01 %
<i>Trichuris trichiura</i>	53,47 %	55,73 %

L'examen des statistiques précédentes permet d'affirmer que l'infestation par les parasites intestinaux atteint *actuellement* dans la région parisienne *plus de la moitié* des adultes, sans que l'on ait à tenir compte, ni de l'âge, ni du sexe.

La comparaison de nos résultats avec les statistiques précédemment publiées ne semble toutefois pas indiquer une augmentation de l'index parasitaire.

L'infestation individuelle montre surtout le grand nombre d'individus parasités par *Trichuris trichiura*, ce qui est généralement admis par tous les parasitologues. Il ne nous appartient pas de discuter du rôle clinique que l'on doit reconnaître à ce Nématode, dont le pouvoir pathogène est controversé depuis la publication de EL. METCHNIKOFF (104). Si l'on excepte le parasitisme à *Trichuris trichiura*, l'index parasitaire de la région parisienne *s'abaisse aux environs de 4 %*, ce qui montre la prépondérance du Trichocéphale sur les autres parasites.

CONCLUSION

Soixante-dix pour cent de la population parisienne héberge des parasites intestinaux. Devant un tel nombre, déplorons que la Parasitologie coprologique soit délaissée de presque tous, parce qu'inconnue de la plupart. Dans le laboratoire moderne d'analyses médicales, son importance devrait être égale à celle des autres sciences biologiques, car son rôle, dans le diagnostic gastro-entérologique, s'avère comme de tout premier ordre.

Il est possible de discuter sur l'action pathologique propre à certains Helminthes ou à quelques Protozoaires, mais il est impossible de nier la valeur clinique de l'examen parasitologique par enrichissement des matières fécales en éléments figurés. On s'est borné généralement à lui permettre de donner les éléments d'un diagnostic qualitatif, mais sans plus; à notre avis, c'est là une erreur. Lorsqu'il s'agit d'éléments anormaux présents dans les humeurs, on ne se contente pas d'un diagnostic qualitatif, on l'accompagne d'une détermination quantitative; ne paraîtrait-il pas vain, aujourd'hui, de noter par exemple la présence d'albumine dans le liquide céphalo-rachidien, sans en indiquer la teneur exacte? Pourquoi donc cela n'est-il pas admis dans la grande majorité des analyses parasitologiques de matières fécales? Est-ce que l'affirmation, sans autre précision, de la présence d'œufs de Trichocéphale dans une selle peut seule suffire à l'analyste médical? Evidemment non.

C'est pour essayer de remédier à cette lacune que nous

avons tenté d'établir une nouvelle méthode de recherche qualitative et aussi quantitative des éléments parasitaires dans les matières fécales.

L'emploi de notre méthode doit permettre à tout analyste médical d'augmenter la sûreté de ses conclusions. Par suite de l'enrichissement en éléments pathogènes observables, il lui devient aisé de dépister même une faible parasitose, il peut en chiffrer la valeur absolue, en établir les variations et suivre, sans difficultés, les résultats de la thérapeuthique instituée.

Vu : Le Doyen,

A. DAMIENS.

Vu : Le Président de Thèse,

L. LAUNOY.

Vu et Permis d'Imprimer :

Le Doyen de la Faculté des Sciences

chargé des fonctions de

Recteur de l'Académie de Paris,

Ch. MAURAIN.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 C. DOBELL, 1920. — The discovery of the intestinal Protozoa of man. (*Proc. of the Royal Soc. of Medicine* 1920, XIII. *Section of the History of Medicine*, pp. 1-15.)
- 2 H. BEAUREGARD & V. GALIPPE, 1880. — Guide de l'élève et du praticien pour les travaux pratiques de micrographie. (*Paris, Masson, éditeur.*)
- 3 Ch. ROBIN, 1871. — De l'examen du contenu intestinal et des fèces. *Traité du microscope.* (*J.-B. Ballière, éditeur, pp. 607-611.*)
- 4 Ch.-W. STILES, 1903. — Report upon the prevalence and geographical distribution of Hookworm disease in the United State. (*Second edition. Hyg. Lab. Bull.* 10, *Washington.*)
- 5 A.-E. BOYCOTT & J.-S. HALDANE, 1904. — An outbreak of Ankylostomiasis in England. (*Journ. of Hyg., Part. 2, IV, p. 73.*)
- 6 W. PEPPER, 1908. — A new Method for the examination of the faeces for the ova of Uncinaria. (*Journ. Med. Research. Boston.*)
- 7 G.-F. MORIN, 1922. — Sur un procédé technique de recherche des œufs de *Schistosoma mansoni*. (*Bull. de la Soc. de Path. exotique XIV, p. 328.*)

- 8 M.-J. WHITE, 1914. — Research of the ova of *Uncinaria*.
(*Public Health Report*, February.)
- 9 FAUNTLEROY & HAYDEN, 1915. — A new Method of
examining stools for eggs. (*U. S. Nav. Med. Bull.*,
IX, p. 81.)
- 10 FAUNTLEROY, 1915. — Examination of arriving aliens for
Uncinariasis at Honolulu. (*Amer. Journ. of Trop.*
Dis., II, p. 703.)
- 11 W.-C. BILLINGS & J.-P. HICKEN, 1916. — Some points
about Hookworm disease, its diagnosis and treat-
ment. (*Journ. of Amer. Med. Assoc.*, Dec. 23,
Vol. 67, n° 26, pp. 1908-1912.)
- 12 C. LANE, 1918. — Methods old and new for the Detection
of Hookworm Infection. (*Indian Journ. Med.*
Res., Vol. V, p. 350.)
- 13 C. LANE, 1919. — Diagnosis on a large Scale in Hookworm
infection. (*Indian Journ. Med. Res.*, *Special In-*
dian Science Congress Number, p. 186.)
- 14 C. LANE, 1923. — The mass diagnosis of *Ankylostome*
Infestation. Part. I. (*Trans. Roy. Soc. Trop.*
Med. & Hyg., XVI, pp. 274-313.)
- 15 C. LANE, 1923. — On *Ankylostome* Infestation. The chan-
ging Problem. (*Brit. Med. Journ.*, 31 st. March.)
- 16 C.-C. BASS, 1906. — *Uncinariasis* in Mississippi. (*Journ.*
of Amer. Med. Ass., XLVII, p. 185.)
- 17 C.-C. BASS, 1909. — Mild *Uncinaria* Infection. (*Arch.*
Inter. Med., III, p. 446.)
- 18 P.-E. GARRISON, 1910. — Helminthological Technique.
(*U. S. Nav. Med. Bull. Washington*, IV,
p. 345.)
- 19 C. WELLMAN, 1910. — *Comments on Tropical Medicine.*

- Cal. State Journ. Med. San Francisco, VIII, p. 312.)*
- 20 M.-C. HALL, 1911. — A comparative study of methods of examining faeces for evidence of parasitism. (*U. S. Depart. of Agric. Bur. of animal industry, Bull. 135.*)
- 21 K. UJIHARA, 1914. — Studien Über die Amöbendysenterie. (*I. Mitt. F. Hyg., t. LXXVII, pp. 329-355.*)
- 22 S. COCHRAN, 1915. — Concentration of Helminth ova from faeces. (*China Med. Journ., Nov., Vol. 29, n° 6, pp. 398-399.*)
- 23 K. TANAMI, 1916. — A simple Method of concentrating Parasite Eggs. (*Jikwa Zassi, Sept., 20, n° 196, p. 107.*)
- 24 M.-A. BARBER, 1917. — Memorandum on Methods for Diagnosing and Treating Uncinariasis. (*Noted in Bibliography of Hookworm Disease. Rockefeller Foundation, International Health Board.*)
- 25 M.-E. BARNES, 1917. — Report for the month June on work for the Eradication and Control of Uncinariasis in Siam.
- 26 M.-E. BARNES, 1919. — Final report of the above work.
- 27 C.-A. KOFOID & M.-A. BARBER, 1918. — Rapid Method for Detection of ova of Intestinal Parasits in Human stools. (*Journ. of Amer. Med. Ass., LXXI, p. 1557, réédité en 1919 par: California State Board of Health. Pathological Reprints Series. Vol. I, n° 1.*)
- 28 C. LANE, 1928. — On Ankylostome Infestation. The changing Problem. (*Amer. Journ. of Hyg., VIII, May Suppl., p. 148.*)
- 29 W.-H. GATES, 1920. — A Method of concentration of

- parasitic eggs in faeces. (*Journ. of Paras.*, VII, p. 49.)
- 30 S.-T. DARLING, M.-A. BARBER & H.-P. HACKER, 1920. — Hookworm and malaria Research in Malaya, Java and the Fiji Islands. Report of Uncinariasis Commission to the Orient. (*Rockefeller Foundation International Health Board. New-York City*).
- 31 F. FULLEBORN, 1920. Neuere Methoden zum Nachweis von Helmintheneiern. (*Archiv. f. Schiffs und Tropenhyg.*, XXIV, pp. 174-176.)
- 32 W. NOLLER & L. OTTEN, 1921. — Die Kochsalzmethode bei der Untersuchung der Haustier Kokzidien. (*Berl. Tierärztl. Woch.*, XXXVII, pp. 341-343.)
- 33 H.-H. WILLIS, 1921. — A simple levitation Method for the Detection of Hookworm Ova. (*Med. Journ. Australia*, pp. 375-376, 29 octobre 1921.)
- 34 T. VAJDA, 1922. — A New Method for Detecting the Eggs of Parasites in faeces. (*Journ. Amer. Vet. Med. Assoc.*, XIV, p. 539.)
- 35 A.-L. SHEATHER, 1923. — The Detection of Worm eggs in the faeces of animal. (*Journ. of Compar. Path. and Therapeutic*, XXXVI, part. 2.)
- 36 K.-S. MHASKAR, 1923. — The diagnosis of Hookworm infection. (*Indian Journ. Med. Res.*, X, pp. 665-686.)
- 37 M. KHALIL, 1924. — Ankylostomiasis and Bilharziasis in Egypt. (*Reports and Notes of the Public Health Laboratories, Le Caire*, n° 6.)
- 38 R. SIGALAS & R. PIROT, 1924. — Un nouveau procédé d'enrichissement en Coprologie. (*C. R. de la Soc. de Biologie*, tome XC, p. 755.)

- 39 R. PIROT, 1924. — Recherche des œufs d'Helminthes en coprologie. — *Thèse de Médecine. Faculté de Bordeaux*.
- 40 L. CAUCHEMEZ, 1925. — La méthode de Willis modifiée appliquée à l'examen des déjections d'herbivores. *Ann. de Parasitologie*, III, pp. 206-207.
- 41 W. YORKE & A.-R.-D. ADAMS, 1926. — Observations on *Entamoeba hystolytica*. — *Ann. of Trop. Med. and Paras.*, XX, 24 juin 1926, p. 281.
- 42 W.-C. HAUSHEER, C.-A. HERRICK & A.-S. PEARSE, 1926. — Evaluation of the Methods of STOLL and LANE in light Hookworm infections, and accuracy in diagnosis of the Willis floatation Method. — *Amer. Journ. of Hyg.*, VI, July suppl., p. 118.
- 43 H. BIDEGARAY, 1929. — Un procédé pratique d'enrichissement en technique coprologique. — *C. R. de la Soc. de Biologie*, tome C, pp. 269-271.
- 44 J. BASUNUEVO & V. ANIDO, 1936. — La solución aceto-formo-azucarada en el enriquecimiento de huevos de parasites en las heces fecales. — *Medicina de Hoy, Habana. Mar.*, vol. 1, n° 2, pp. 49-50.
- 45 Ch.-F. CRAIG & E.-C. FAUST, 1937. — Clinical Parasitology. *Philadelphie, Lea and Febiger*.
- 46 E.-C. FAUST, W. SAWITZ, J. TOBIE, V. ODOM, C.-R. PERES & D. LINCICOME, 1939. — Comparative efficiency of various technics for the diagnosis of Protozoa and Helminths in faeces. The national Institute of Health and Department of tropical medicine. Tulane University. — *Journ. of Paras.*, XXV, pp. 241-262.
- 47 E.-V. KALANTARJAN, 1927. — Zur Kenntnis der Helmin-

- thenfauna der Nor-Bajazetschen Bezirkes. — *Archiv. fur Schiffs und- Tropen Hyg.*, XXXI, pp. 438-442.
- 48 E.-V. KALANTARJAN, 1938. — Utilisation du nitrate de sodium dans la pratique helminthologique. — *Parasitologie médicale et maladies parasitaires*, VII, pp. 142-143, analysé dans: *Helminthological Abstracts*, VII, n° 222, d., p. 88, 1938.
- 49 J. THOULET, 1885. — Attraction s'exerçant entre les corps en dissolution et les corps solides immergés. — *C. R. Ac. Sciences*, t. 99, p. 1072, et t. 100, p. 1002.
- 50 J. THOULET, 1891. — Expériences sur la sédimentation. — *C. R. Ac. Sciences*, t. 112, p. 502, et *Ann. des Mines*, janvier-février.
- 51 J. THOULET, 1900. — Analyse mécanique des sols sous-marins. — *Ann. des Mines* (9), XXII.
- 52 J. THOULET, 1907. — Précis d'analyse des fonds sous-marins actuels et anciens. — *Paris, Chapelot éd.*
- 53 A. LAUBY, 1909. — Nouvelle méthode technique pour l'étude paléo-phytologique des formations sédimentaires anciennes. — *Bull. Soc. botanique de France*, LVI, mémoire XV.
- 54 K. USAMI & R. KAMADA, 1921. — Question on the Use of Gauze Filters in the collection of the Eggs of human Parasites. — *Iji Shimbum*, fév., n° 1613.
- 55 C. LANE, 1923. — The mass diagnosis of Ankylostome infestation. — *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg.*, Part. I to 7, XVI, p. 274, XVII, p. 417; — 1925, *ibid.*, XVIII, 1925 (a), pp. 278-310, XIX, 1925 (b), pp. 156-176. — 1926, *ibid.*, XX, 1926, pp. 455-477.

- 56 TAUSSIG, 1910. — Uncinariasis. — *Interstate Med. Journ.*, March.
- 57 A.-C. CHANDLER, 1925. — Note on some Methods of diagnosis of Hookworm Infection and of estimating the Egg output. — *Ind. Med. Gaz.*, LX, Sept. 1925 (b).
- 58 M. KHALIL, 1925. — The diagnosis of Ankylostomiasis nature. — *Amer. Journ. of Hyg.*, May, 1925 (b), p. 762.
- 59 W. TELEMANN, 1908. — Eine Methode zur Erleichterung der Auffindung von Parasiteneiern in der faeces (Aus der Medizinischen Universitäts - Poliklinik in Königsberg. I. Pr. Direktor: Prof. Dr. Schreiber). — (*Dtsch. med. Woch.*, XXXIV, p. 1510.)
- 60 S. YAOITA, 1912. — Ein neues Verfahren zur Auffindung spärlicher Parasiteneier in Faeces. — *Dtsch. med. Woch.*, p. 1540.
- 61 UHLENHUTH & XYLANDER, 1909. — Untersuchungen über Antiformin. — *Arb. a. d. Kais. Gesundeheitsamte*, XXXII, p. 158.
- 62 Mac NEIL, 1913. — An improved Method of extracting ova from stols — *Journ. of Amer. Med. Assoc.*, vol. LXI, n° 12, p. 1618.
- 63 Y. MIYAGAWA, 1913. — Beziehungen zwischen Schistosomiasis Japonica und der Dermatitis, unter Berücksichtigung der Methode der Auffindung von Parasiteneiern in der Faeces, und Beiträge zur Kenntnis der Schistosomum-Infektion. — *Central f. Bakt., Orig.*, LXIX, p. 135.
- 64 K. SCHROEDER & C. JORGENSEN, 1913. — Om Forekomsten of Trichocephalus dispar. — *Hospitalstidende*, 1^{er} et 8 octobre.

- 65 J.-W. CROPPER & R.-W. ROW, 1917. — A Method of concentrating *Entamoeba* cysts in stools. — *Lancet* 3st. February.
- 66 C. MANALANG, 1924. — Ankylostomiasis. Laboratory diagnosis of Hookworm Infection. — *Journ. Philippine Islands Med. Assoc.*, Nov., vol. 4, n° XI, pp. 421-424.
- 67 J. CARLES & E. BARTHÉLEMY, 1917. — Procédé spécial d'homogénéisation et de tamisage pour collecter les kystes dysentériques contenus dans les selles. — *C. R. de la Soc. de Biologie*, t. LXXX, p. 402.
- 68 E. BARTHÉLEMY, 1917. — Essai de coprologie microscopique. — *Thèse de Pharmacie. Faculté de Paris*.
- 69 W.-C. BOECK, 1917. — A rapid Method for the concentration of Protozoan cysts in mammalian faeces. — *Univ. of California Public in Zool.*, t. XVIII, f. 9, pp. 145-149, 24 décembre.
- 70 L. BARD, 1918. — Précis des examens de laboratoire. — *Masson, éditeur*.
- 71 Y. RODENHUIS, 1921. — Handelifing bij net onderzoek naar protozoen in de menschelijke fœces voorkomend. — *Kolonial Institut Amsterdam, Mededeel*, n° XVI.
- 72 M. LANGERON, 1925. — Précis de Microscopie. — 4^e édition, pp. 728-730, *Masson, éditeur*.
- 73 A. ROBIN, 1925. — Une nouvelle méthode d'enrichissement. Séance du 31 mars 1925 de la Soc. de Biologie de Bordeaux. — *C. R. de la Soc. de Biologie*, t. XCII, pp. 1099-1100.
- 74 Ch. GARIN, G. DOUBROW & H. MOUNIER, 1928. — Les

méthodes d'enrichissement appliquées à la recherche des œufs de parasites dans les matières fécales. Notre modification de la méthode Telemann. *Lyon-Médical*, 25 mars 1928.

- 75 D. DE RIVAS, 1928. — An efficient and rapid Method of concentration for the detection of ova and cysts of intestinal parasites. — *Amer. Journ. of Trop. Med.*, VIII, 1928 et XII, 1932.
- 76 M. RONDEAU DU NOYER & R.-M. MIDY, 1932. — Une amélioration à la méthode de Telemann. — *Bull. de la Soc. Franc. de Microscopie*, vol. I, n° 1.
- 77 R. KAMADA, 1922. — On my new Method of collecting the Parasite's Eggs. — *Aichi Igakkwai Zasshi* (*Journ. Aichi Med. Soc.*), sept., vol. 29, n° 5. Analysé dans: *Japan Med. World*, Tokio, 1923, janv., 15, vol. 3, n° 1, p. 11.
- 78 J.-A. SCOTT, 1937. — A simple substitute for Antiformine for parasitological uses. — *International Health Division of the Rockefeller Foundation and Department of Public Health of the Egyptian government*. Analysé dans: *Journ. of Paras.*, XXIII, 1937, p. 109.
- 79 E. BRUMPT, 1923. — Utilisation de l'antiforme pour l'épuration des selles destinées à la culture de certains œufs d'Heminthes. — *Ann. de Parasitologie*, I, p. 301.
- 80 A.-E.-E LINS, 1936. — Ovohelminthoscopias — *Boletim da Secretaria Geral de Saude e Assistencia*. Rio de Janeiro, déc. 31, vol. 2, n° 5, pp. 83-93. Analysé dans: *Trop Dis. Bull.*, XXXV, 1938, p. 216.
- 81 L. QUADFLIEG, 1909. — Ein Beitrag zur Faecesuntersuch-

ung auf Parasiteneier. — *Dtsch. med. Worch.*, XLVIII.

- 82 E. BRUMPT, 1911. — Le diagnostic des épizooties parasitaires par l'examen microscopique des déjections. — *Rev. Gén. des Sciences*, pp. 123-127.
- 83 N.-R. STOLL, 1923. — Investigations on the Control of Hookworm Disease, XV. An effective method of counting Hookworm eggs in faeces. — *Amer. Journ. of Hyg.*, III, pp. 59-70.
- 84 A.-C. CHANDLER, 1925. — The measure of Hookworm infection in communities (From the Hookworm Research Laboratory endowed by Indian Jute Mills Association, Calcutta School of Tropical Medicine.) — *Ann. of Trop. Med. and Paras.*, XIX, pp. 191-210.
- 85 W.-W. CORT, J.-B. GRANT, N.-R. STOLL et leurs collaborateurs, 1926. — Researches on Hookworm in China. (Embodying the results of the work of the China Hookworm Commission, june 1923 to november 1924.) — *Amer. Journ. of Hyg.*, Monographic series n° 7, pp. 6-7.
- 86 N.-R. STOLL & W.-C. HAUSHEER, 1926. — Accuracy in the Dilution Egg counting Method. — *Amer. Journ. of Hyg.*, VI, March suppl., pp. 80-133.
- 87 N.-R. STOLL & W.-C. HAUSHEER, 1926. — Concerning two options in Dilution Egg counting; Small drop and displacement. — *Amer. Journ. of Hyg.*, VI, March suppl., pp. 134-145.
- 88 F.-C. CALDWELL & E.-L. CALDWELL, 1926. — A Dilution Flootation Technic for Counting Hookworm ova in Field Surveys. — *Amer. Journ. of Hyg.*, VI, March suppl., pp. 146-159.

- 89 J. ZSCHUCKE, 1931. — Eine Kammer für die mikroskopische Zählung von Helmintherern und larven. — *Arch. f. Schiffs und-Tropenhyg.*, XXXV, pp. 357-363.
- 90 S.-L. HUNG, 1926. — Ueber den Nachweis von Hakenwurmeiern im Kote, den Wert ihrer quantitativen Bestimmung und eine einfache neue Methode für letztere. — *Arch. f. Schiffs und-Tropenhyg.*, Sept. 13, Vol. XXX, n° 9, pp. 399-342.
- 91 F. FULLEBORN, 1927. — Zur « Hamburger Deckglasauszählung » für Hakenwurmeier. — *Arch. f. Schiffs und-Tropenhyg.*, XXXI, pp. 232-236.
- 92 W.-A. HOFFMAN, J.-A. PONS & J.-L. JANER, 1934. — The Sedimentation-Concentration Method in Schistosomiasis mansoni. — *Puerto-Rico Journ. of Public Health and Trop. Med.*, Vol. IX, n° 3, pp. 283-291.
- 93 A.-V. MARTINS, 1937. — Sobre a pesquisa dos ovos de Schistosoma mansoni pelo metodo da sedimentação concentração. — *Brasil Med.*, LI, pp. 319-321. *Analysé dans : Trop. Dis. Bull.*, XXXIV, p. 799.
- 94 M. RONDEAU DU NOYER, 1918. — Nouveau lut pour préparations microscopiques. — *C. R. de la Soc. de Biologie*, LXXX, p. 741.
- 95 A. GRAND, 1927. — Recherches de coprologie macro et microscopique sur les débris alimentaires. — *Thèse de Pharmacie. Faculté de Paris.*
- 96 M. LANGERON & M. RONDEAU DU NOYER, 1930. — Coprologie microscopique. — 2° éd., Masson, éditeur.
- 97 E. BRUMPT, 1936. — Précis de Parasitologie. — 5° éd., Masson éditeur.

- 98 R. DESCHIENS, 1927. — Comment dépister les infections parasitaires du tube digestif. — *Presse Médicale*, 1^{er} janvier, p. 3.
- 99 M.-C. HALL, 1917. — Apparatus for use in examining faeces for evidence of parasitism. — *Journ. Lab. and Clin. Med.*, Février, vol. 2, n° 5, pp. 347-353.
- 100 R.-B. HILL, 1923. — Investigations on the Control of Hookworm disease, XXV. The use of an Eggs Counting Method in an intensive campaign. — *Amer. Journ. of Hyg.*, 1923 (3), July suppl., pp. 37-60.
- 101 Ch.-W. STILES, 1915. — Intestinal Infections. The School Grades attained by 2166 White School Children (1062 boys and 1104 girls) in the city of X..., Classified by Age, Sanitation and Intestinal Parasites. — *United States Public Health Reports*, 9 juillet.
- 102 L. BALLAND, 1910. — Fréquence des Trichocéphales et des Oxyures dans le cæcum et l'appendice à Paris. Statistique. — *Thèse de Médecine. Faculté de Paris*.
- 103 C. DESPORTES, 1938. — Complément aux recherches sur la fréquence du Trichocéphale et de l'Oxyure à Paris. — *Ann. de Paras. Humaine et Compar.*, vol. 16, n° 1, janvier, pp. 17-21.
- 104 El. METCHNIKOFF, 1901. — Note helminthologique sur l'appendicite. — *Bull. Ac. de Médecine*, n° 10 séance du 12 mars 1901.
-

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	11
CHAPITRE I.	
Méthodes de recherches des éléments parasitaires	19
1°) Méthodes physiques	21
2°) Méthodes chimiques	73
CHAPITRE II.	
Méthodes de numération des œufs d'Helminthes	97
CHAPITRE III.	
Essai sur une nouvelle méthode en vue d'un diagnostic qualitatif et quantitatif des éléments parasitaires dans les matières fécales	111
Principe de la méthode	115
Appareils et réactifs utilisés	118
Technique de la méthode	129
Application de la méthode à la détermination de l'index parasitaire de la région parisienne	144
CONCLUSION	151
BIBLIOGRAPHIE	153

IMPRIMERIE R. FOULON
29, Rue Deparcieux, 29
P A R I S
